

Lane Medical Library

OVER DE EMIGRATIE VAN WITTE BLOEDLICHAMPJES

K. J. FERINGA

OVER DE EMIGRATIE VAN WITTE BLOEDLICHAMPJES

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN
GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE
AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE GRONINGEN,
OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS
DR. F. M. JAEGER, HOOGLEERAAR IN DE
FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE,
TEGEN DE BEDENKINGEN DER FACULTEIT
IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN OP
VRIJDAG 31 MAART, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR,

DOOR

KLAAS JAN FERINGA,
GEBOREN TE DE WAARDEN - GRIJPSKERK.

GEBROEDERS HOITSEMA — 1922 — GRONINGEN.

AAN MIJNE VROUW.

Langen tijd na mijn bevordering tot arts, door de bekende wetswijziging op het promotierecht alsnog in staat gesteld een proefschrift te schrijven, grijp ik gaarne de gelegenheid aan, U Hooggeleerden der Natuurphilosophische en Medische Faculteiten der Amsterdamsche Universiteit van harte te danken voor het van U genoten onderwijs.

U, Hooggeleerde HAMBURGER, Hooggeachte Promotor, dank ik ten zeerste voor de groote gastvrijheid, die gij mij in Uw uitstekend ingericht laboratorium hebt verleend, voor de welwillende belangstelling en hulp, die ik steeds van U heb mogen ondervinden ook bij het bewerken van dit proefschrift, en voor het vertrouwen, dat gij in mij hebt gesteld, door mij als assistent aan Uw instituut te verbinden.

Ook U, Zeergeleerde DE HAAN wil ik nog in het bijzonder danken voor de vriendschappelijke wijze, waarop gij mij steeds in alles hebt bijgestaan, niet in het minst bij het bewerken van dit proefschrift.

Ten slotte een woord van dank aan allen, die mij bij mijn werk behulpzaam zijn geweest.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154010_0031

INHOUD.

	Bladz.
INLEIDING	1
HOOFDSTUK I	3
HET OPTREDEN VAN STERIELE EXSUDATEN IN DE BUIKHOLTE	3
1. Inleidende beschouwingen	3
2. Het normale transsudaat in de buikholtte van het konijn en de daarin aanwezige cellen	6
<i>Literatuuropgaven</i>	6
<i>Eigen onderzoek</i>	7
3. Vergelijkende onderzoekingen over de mate van ex- sudaatvorming na inspuiting van verschillende stoffen	9
<i>Inspuitingen met NaCl 0.9 %</i>	9
<i>Inspuitingen met stijfseloplossingen in NaCl 0.9 %</i>	18
<i>Inspuitingen met andere chemische stoffen in waterige oplossing</i>	20
<i>Inspuitingen met nietelectrolyten</i>	21
<i>Inspuitingen met vloeistoffen, die de chemische samen- stelling van het bloed naderen</i>	23
<i>Inspuitingen met oleum olivarum en paraffinum liquidum</i>	27
<i>Samenvattend overzicht</i>	38
HOOFDSTUK II	43
DE HERKOMST DER EXSUDAATCELLEN	43
1. De witte bloedlichaampjes in normaal konijnebloed . .	44
<i>Methode van telling</i>	44
<i>Fouten bij telling in de telkamer</i>	46
<i>Fouten bij de telling van strijkpraeparaten</i>	48
<i>De bloedafname</i>	50
<i>De leeftijdsfactor in verband met het bloedbeeld</i> . .	55
<i>Ziektetoestanden</i>	58

	Bladz.
<i>De aard van het gebruikte voedsel</i>	58
<i>De tijd van afname in verband met den tijd van voedselopname</i>	61
2. De veranderingen van het bloedbeeld na het inspuiten van vocht in de buikholte	69
<i>Het bloedbeeld na inspuiting van waterige vloeistoffen</i>	72
<i>Het bloedbeeld na inspuiting van oleum olivarum en paraffinum liquidum</i>	78
<i>Samenvattende conclusies</i>	87
3. Histologisch onderzoek van het weefsel, dat het exsudaat begrenst (net, mesenterium, milt)	92
4. Proeven met het cultiveeren in vitro van lymphoid weefsel	100
HOOFDSTUK III	106
OVER DE OORZAKEN DER EMIGRATIE DER LEUCOCYTEN . .	106
1. Literatuuroverzicht	106
<i>Amoeboide beweeglijkheid</i>	106
<i>Chemotaxis</i>	109
2. Onderzoekingen naar het verband tusschen de chemische eigenschappen van de ingespoten vloeistof en de emigratie	116
<i>Onderzoek op Cl, Ca, glucose en eiwitstoffen . . .</i>	118
<i>De H-ionenconcentratie in de ingespoten vloeistof .</i>	128
3. Het verband tusschen H-ionenconcentratie en emigratie	141
<i>Potentiaalverschil, veroorzaakt door verschil in H-ionenconcentratie</i>	145
<i>Kataphoreseproeven met bloedlichaampjes, in verband met potentiaalverschillen</i>	155
<i>Samenvatting</i>	161
ALGEMEENE SAMENVATTING	164

INLEIDING.

Het is de verdienste van DE HAAN, een methode te hebben aangegeven, waardoor zonder het proefdier te schaden, herhaaldelijk groote hoeveelheden polynucleaire leucocyten kunnen worden verkregen. Hij spoot daarvoor een halfprocents stijfseloplossing in physiologische keukenzoutoplossing in de buikholte van het proefdier in, daarbij van de veronderstelling uitgaande, dat aan stijfsel evenals aan enkele andere stoffen (zooals aleuronaat, zinnaber, enz.) een specifiek chemotactische werking toekwam op de polynucleaire leucocyten.

Later bleek hem evenwel, dat physiologische keukenzoutoplossing zonder stijfsel en ook andere physiologische vloeistoffen dezelfde werking bezaten.

Waar hier emigratie kwam, als reactie op voor het lichaam zoo indifferente vloeistoffen, scheen het gewenscht, aan de hand van de boven aangegeven methode het onderzoek systematisch voort te zetten, door ook andere chemische stoffen te onderzoeken op hun vermogen emigratie van leucocyten te veroorzaken en zoo mogelijk een scheiding te maken tusschen stoffen, die wel en zulke, die dit niet vermogen.

De beschrijving van de hierover genomen proeven vormt een deel van dit proefschrift.

Om een beter inzicht te verkrijgen in het verloop van de emigratie der leucocyten, werden gelijktijdig onderzocht de veranderingen, die als gevolg van de emigratie, het bloedbeeld na de inspuiting onderging en de veranderingen, die in het

ingespoten vocht zelf optraden. Daarvoor was noodig een grondig onderzoek naar het normale bloedbeeld van het konijn, dat als proefdier was gekozen, daar in de literatuur hieromtrent groote verwarring bestaat.

Daar in het exsudaat bijna uitsluitend polynucleaire leucocyten werden aangetroffen en de lymphocyten, gezien het microscopisch onderzoek van het bloed, in minstens even groote hoeveelheden uit het bloed verdwenen als de polynucleaire leucocyten, werd het vraagstuk van het genetisch verband tusschen lymphocyten en polynucleaire leucocyten in oogenschouw genomen en getracht, deels door histologisch onderzoek van de weefsels rondom het exsudaat en deels door cultuur in vitro van lymphoid weefsel, daarover een eigen meening te vormen.

Wat betreft de oorzaken der emigratie, leverde het onderzoek in tegenstelling met de gangbare meening, geen aanwijzingen, dat hierbij specifiek chemotactische eigenschappen in het spel waren.

Een nader onderzoek naar de chemische eigenschappen van het exsudaat bracht evenwel een constant optredende verandering in fysisch-chemischen zin aan het licht, waardoor het mogelijk werd een aannemelijke verklaring voor het tot stand komen der emigratie te geven.

In overeenstemming met den hierboven aangegeven gang van het onderzoek heb ik het proefschrift in drie hoofdstukken ingedeeld.

Het *eerste hoofdstuk* handelt over het optreden van steriele exsudaten in de buikholte.

In het *tweede hoofdstuk* is vervat het onderzoek over de herkomst der exsudaatcellen.

Het *derde hoofdstuk* handelt over de oorzaken van de emigratie der leucocyten.

HOOFDSTUK I.

HET OPTREDEN VAN STERIELE EXSUDATEN IN DE BUIKHOLTE.

1. INLEIDENDE BESCHOUWINGEN.

Reeds zeer lang zijn er verschillende methoden bekend voor het verwekken van leucocytenexsudaten in sereuse holten en op andere plaatsen.

Door NEISSER en WECHSBERG werd aleuronaatoplossing in NaCl 0,9 % gebruikt voor injectie in de pleuraholte. Door OPIE werd eveneens aleuronaat gebruikt met toevoeging van stijfsel. Verder werden allerlei stoffen als lycopodium, zinnaber en andere gebruikt. HAMBURGER¹⁾ heeft reeds een aantal jaren geleden beschreven, dat ook zonder toevoeging van dergelijke specifieke stoffen, alleen reeds door onderhuidsche inspuiting van een zeer kleine hoeveelheid van een sterk hypertonische keukenzoutoplossing, op de plaats van inspuiting een opeenhooping van leucocyten ontstaat.

Het nadeel van deze methoden was meestal, dat of te lang moest worden gewacht op een voldoende emigratie, of slechts kleine hoeveelheden leucocyten werden verkregen.

¹⁾ H. J. HAMBURGER, Osmotischer Druck und Ionenlehre, Bnd. I 402, Wiesbaden, 1902.

DE HAAN ¹⁾ wist een methode uit te werken, *waardoor op een zeer eenvoudige manier, zonder het proefdier te schaden, herhaaldelijk groote hoeveelheden leucocyten konden worden verkregen in korten tijd.* Hij gebruikte eerst een stijfseloplossing in NaCl 0.9 ‰, maar liet later de stijfsel weg, als geheel onnoodig voor de emigratie der leucocyten. Bij meermalen ingespoten konijnen kon hij op deze manier soms 2 à 3 cc. polynucleaire leucocyten verkrijgen. Door een voorloopig onderzoek door DE HAAN ²⁾ verricht, waaraan ik medewerking verleende, bleek dat allerlei stoffen aanleiding gaven tot emigratie van polynucleaire leucocyten, zoodat de voorloopige veronderstelling reeds door hem werd uitgesproken, dat de reden voor de emigratie der leucocyten in een potentiaalverschil van het exsudaat met het bloed zou gelegen zijn.

Door mij werden de onderzoeken verder voortgezet.

Er werden vergelijkende onderzoeken gedaan met isotonische waterige oplossingen van electrolyten zooals NaCl, Na₂SO₄, NaHCO₃, Na₂HPO₄, met nielectrolyten zooals glucose en rietsuiker en met meer physiologische vloeistoffen, zooals eigen en vreemd serum, ultrafiltraat van serum en Ringer's vloeistof, verder met oleum olivarum en paraffinum liquidum. De strengste voorzorgen werden genomen voor asepsis, daar een lichte infectie natuurlijk reeds een grooten invloed zou kunnen uitoefenen op het resultaat van de proef. De huid van het proefdier werd nauwkeurig gesteriliseerd door Jodium. De instrumenten werden steeds uitgekookt en de vloeistof, die werd gebruikt, zoo mogelijk ook gekookt. Wanneer dit niet mogelijk was, bijv. met serum, ultrafiltraat etc., werd de voorzorg genomen, alles aseptisch

¹⁾ J. DE HAAN, Dissertatie, Groningen 1920, bl. 42.

²⁾ l. c., bl. 133.

te behandelen. Tot dit doel werd het serum aseptisch opgevangen, ultrafiltraat door een kaars van Chamberland bacterievrij gemaakt.

Het buikvocht, dat werd afgetapt, bleek bij enting altijd steriel te zijn. Overigens schijnt ook een leucocytenexsudaat een zoo groote bactericide werking te hebben, dat een kleine bacterie-invasie aanstonds onschadelijk wordt gemaakt. Dit bleek namelijk hieruit, dat het aanprikken van den darm door de troicart, nooit eenigen schadelijken invloed had; zelfs bleek eenige tijd daarna het exsudaat weer steriel te zijn.

Het komt mij onnoodig voor, om de manier, waarop de exsudaten werden verkregen, nader te beschrijven, daar deze methode reeds uitvoerig is beschreven door DE HAAN.

Achtereenvolgens zullen door mij worden behandeld: inspuitingen met

stijfseloplossing in NaCl 0.9 %,

oplossingen van andere electrolyten,

glucose- en rietsuikeroplossingen,

meer physiologische vloeistoffen als serum, ultrafiltraat van serum en Ringer's vloeistof,

oleum olivarum en paraffinum liquidum.

Van sommige daarvan is het verloop van de exsudaatvorming op de verschillende tijdpunten uitvoeriger behandeld, zooals bij keukenzout en glucose, van andere beknopter.

Nadat eerst de resultaten van elke inspuiting afzonderlijk zijn behandeld en daarbij voorloopige conclusies getrokken, zal ten slotte een balans van de resultaten worden opgemaakt.

Alvorens systematisch te behandelen, wat het resultaat was van de verschillende inspuitingen, die in de buikholte werden gedaan, was een onderzoek noodzakelijk naar het normaal altijd daarin voorkomende transsudaat en zijn celinhoud.

2. HET NORMALE TRANSSUDAAT IN DE BUIKHOLTE VAN HET KONIJN EN DE DAARIN AANWEZIGE CELLEN.

Literatuuropgavèn.

De buikholte van een dier bevat meestal een weinig transsudaat, waarin cellen gesuspendeerd zijn. Het resultaat van het onderzoek van verschillende onderzoekers (RANVIER, JOLLY, KANTHACKEN HARDY, BEATTIE, MAXIMOW en anderen) naar den aard dezer cellen, is nogal uiteenlopend. Allen stemmen echter hierin overeen, dat de hoofdmassa der cellen bestaat uit kleinere en grootere mononucleaire cellen. Daarnaast worden bij verschillende dieren soms wel en soms niet eosinophile en basophile cellen gevonden.

Voor het konijn bestaat meer eenstemmigheid; uitgezonderd STÄUBLI ¹⁾ vinden alle onderzoekers hier slechts mononucleaire cellen. SCHOTT ²⁾ heeft een uitgebreid onderzoek ingesteld naar de transsudaatcellen van de peritoneaal en de pleuraholte. Hij kwam tot het resultaat, dat bij alle door hem onderzochte dieren, verreweg het grootste deel bestond uit groote cellen met een grooten rand zwak basophiel protoplasma en een groote centraal gelegen ronde, ovale of niervormige kern. Het protoplasma vertoont pseudopodien en om den rand vacuolen, die door SCHOTT als secretieverschijnselen worden opgevat. De kern soms dubbel, was duidelijk begrensd, bevatte een scherp geteekend chromatingeraamte zonder degeneratieverschijnselen. Naast de groote cellen bevindt zich volgens SCHOTT meest een gering percentage (soms een grooter), dat precies op lymfocyten gelijkt. Bij sommige dieren als bij de rat en de cavia vond hij tevens nog eosinophile cellen, terwijl STÄUBLI beweert, dat de eosinophile cel een normaal bestanddeel van ieder transsudaat is.

De opvattingen over de beteekenis en de herkomst der transsudaatcellen loopen zeer uiteen. Terwijl v. BRUNN, HELLY ³⁾ en MÖNCKEBERG ⁴⁾

¹⁾ C. STÄUBLI, Volkmanns. Samml. klin. vortr. n^o. 543, bl. 43, 1909.

²⁾ E. SCHOTT, Arch. f. mikr. Anat. Bnd. 74, bl. 143, 1909.

³⁾ K. HELLY, Wien. klin. Woch., bl. 639, 1904.

⁴⁾ J. G. MÖNCKEBERG, Beitr. z. pathol. Anat. u. allg. Pathol., Bnd. 34, bl. 489, 1903.

de groote cellen beschouwen als afgestooten endotheelcellen van het peritoneum, die degenereren, komen hier tegenop zeer verschillende onderzoekers, die aan deze cellen juist een groote levenskracht toeschrijven; RANVIER¹⁾ en SCHOTT²⁾ op grond van de amoeboïde beweeglijkheid, BEATTIE³⁾ en SCHOTT op grond van secretieverschijnselen en phagocytose en JOLLY⁴⁾, MAXIMOW⁵⁾ en SCHOTT op grond van de levendige celvermeerdering, kenbaar aan de mitosen.

Er valt veel voor te zeggen, de groote cellen van het transsudaat gelijk te stellen met die van het bloed en de lympe, zooals KANTHACK en HARDY⁶⁾ doen, die ze als in grootte toegenomen lymphocyten beschouwen, of zooals JOLLY, BEATTIE en RENAUT⁷⁾, die ze met groote monoculeairen of groote lymphocyten identificeeren.

Tegen het verschijnen door emigratie van deze bloedelementen kan aangevoerd worden, dat de verhouding in het bloed en buikvocht zeer verschillend is en dat bij de rat mastcellen in het transsudaat voorkomen, die niet in het stroomende bloed voorkomen. Daar de cellen zich ter plaatse vermeerderen en er allerlei overgangen van kleine tot groote cellen bestaan, kan men zich ze ter plaatse ontstaan denken.

In een ander hoofdstuk bij het bespreken van de herkomst der exsudaatcellen, zal ik nog op deze kwestie terugkomen. 

Eigen onderzoek.

Bij een groot aantal konijnen is door mij een onderzoek ingesteld naar het transsudaat, dat normaal in de buikholte bestaat. Terwijl dit als regel bij jonge exemplaren vrij over-

¹⁾ L. RANVIER, C. r. Acad. Sc. Paris, Tom. 110, p. 768, 1890.

C. r. Acad. Sc. Paris, Tom. 112, p. 922, 1891.

²⁾ E. SCHOTT, Arch. f. mikr. Anat., Bnd. 74, bl. 143, 1909.

³⁾ J. M. BEATTIE, Journ. of Pathol. and Bact., vol. 8, p. 129, 1903.

⁴⁾ J. JOLLY, C. r. Soc. Biol. Ann. 52, p. 710, 1900.

⁵⁾ A. MAXIMOW, Beitr. z. pathol. Anat. u. allg. Path., Bnd. 38, bl. 301, 1905.

⁶⁾ A. A. KANTHACK en W. B. HARDY, Journ. of Physiol., vol. 17, p. 81, 1894—1895.

⁷⁾ J. RENAUT en G. DUBREUIL, C. r. Soc. Biol., Tom. 60, p. 34, 1906.

vloedig is, (5 à 10 cc. loopt na troicartpunctie gemakkelijk af), is dikwijls de hoeveelheid bij oudere dieren zoo gering, dat slechts eenige druppels te verkrijgen zijn.

Evenals voor de andere proeven, waar vocht in de buikholte gebracht moest worden, of vocht afgetapt, maakte ik gebruik van een holle naald als canulevoerder. Door voorzichtig manipuleeren kon meestal een paar cc. afgetapt worden, een hoeveelheid groot genoeg om hiervan praeparaten te maken. Het vocht werd tot dit doel opgevangen in een oplossing van natriumcitraat in keukenzout, afgecentrifugeerd en de cellen in een druppel vloeistof bekeken of er werd een strijkpraeparaat gemaakt. Ook werd het transsudaat wel direct gebruikt voor strijkpraeparaten. De cellen in suspensie werden bekeken in TÜRK's oplossing en in LUGOL's oplossing, waarin zooals later zal blijken, de mononucleaire cellen zich scherp onderscheiden van de polynucleaire leucocyten. De strijkpraeparaten werden met alcohol absolutus gefixeerd en gekleurd volgens GIESMA.

Bij een 20tal konijnen door mij onderzocht, bleek, dat gegranuleerde cellen nooit aanwezig waren. Veelal vertoonden zich in het transsudaat enkele roode bloedlichaampjes, wier aanwezigheid misschien wel toegeschreven zou kunnen worden aan een lichte bloeding, door de prikwond veroorzaakt. Verder was er altijd een groot percentage groote cellen met een groote ronde tot nier- of boonvormige kern, die meestal centraal was gelegen. Enkele cellen hadden twee kernen; kerndeelingen werden door mij niet opgemerkt. Het protoplasma was zwak basisch en vrij homogeen bijna zonder vacuolen, die altijd vermeld worden. De kern was scherp begrensd en vertoonde geen spoor van degeneratie, daarentegen een duidelijk scherp geteekend chromatingeraamte. Bij het eene dier meer, bij het

andere minder, bestonden er overgangen tot kleinere mononucleaire cellen, de kleinste ongeveer ter grootte van een rood bloedlichaampje.

Het transsudaat bevatte naast een zoutgehalte, dat ongeveer gelijk is aan dat van het bloedplasma, een belangrijk lager eiwitgehalte. Uit de spontane stelling blijkt de aanwezigheid van fibrine. Het eiwitgehalte werd bepaald door de refractometer van ABBE. De brekingsindex schommelde bij 17.5° C. van 1.3390 tot 1.3400, vertegenwoordigende een eiwitgehalte van gemiddeld ruim 2%. Ook werd het eiwitgehalte bepaald met de albuminometer van ESBACH; hiermee werden overeenkomstige waarden gevonden.

3. VERGELIJKENDE ONDERZOEKINGEN OVER DE MATE VAN EXSUDAATVORMING NA INSPUITING VAN VERSCHILLENDE STOFFEN.

Inspuitingen met NaCl 0.9%.

De oorspronkelijke methode van DE HAAN voor het verkrijgen van leucocytenexsudaten, bestond in het inspuiten van stijfseloplossing (1 gram op 150 tot 200 cc. NaCl 0.9%).

Daar het bleek, dat inspuiting met NaCl 0.9% evengoed aanleiding gaf tot emigratie van polynucleaire leucocyten, werden mijn proeven hoofdzakelijk met keukenzoutoplossing verricht. Deze werd bij niet te voren gebruikte konijnen ingespoten op 2 achtereenvolgende dagen, om een grooter hoeveelheid leucocyten te verkrijgen dan bij een eenmalige inspuiting.

Om het resultaat der inspuiting na te gaan, moest al het vocht met de vormelementen uit de buikholte verwijderd worden. Dit gaat meestal vrij gemakkelijk door middel van een troicart met zijopeningen, waardoor het vocht uitgeheveld wordt. Daarna

is noodig, dat nog een of tweemaal nagespoeld wordt met physiologische zoutoplossing.

Door de aanwezigheid van fibrine in het exsudaat is het noodig, dit op te vangen zoodanig, dat het onstolbaar wordt. Dit bereikten wij zeer gemakkelijk door een oplossing van NaCl 0.9 % Na-citraat 1.1 % te gebruiken, waarin het vocht werd opgevangen. Daarna werd gecentrifugeerd met een elektrische centrifuge van 3000 toeren per minuut gedurende ± 1 minuut op volle kracht. Daarna werd het sediment met een weinig NaCl 0.9 geschud tot een dikke suspensie. Hiervan werd het totale volume vloeistof gemeten en werd door middel van haematokriten, zooals die vooral door HAMBURGER ¹⁾ zijn aanbevolen, het gehalte aan leucocyten vastgesteld, waaruit het totale volume wordt berekend. Bij groote hoeveelheden kan men ook direct het geheele volume bepalen door centrifugeeren van de geheele suspensie in gecalibreerde buisjes. Daarna werd het procentgetal mononucleaire en polynucleaire leucocyten en eventueel roode bloedlichaampjes door middel van TÜRK'S en LUGOL'S oplossing bepaald. De oplossing van LUGOL bleek voor dit doel ook zeer geschikt te zijn, omdat men daarmee in staat is een scherp onderscheid te treffen tusschen de polynucleaire en de mononucleaire cellen; de eerste zijn nl. sterk jodophiel, dat wil zeggen, de granulaties ervan kleuren zich intensief bruin met jodium; met de laatste is dit niet het geval of alleen na phagocytose van polynucleaire cellen, wat echter gemakkelijk te herkennen is.

Wanneer men nu nog de gemiddelde grootten kent van de polynucleaire en mononucleaire leucocyten en van de roode

¹⁾ H. J. HAMBURGER, ABDERHALDEN'S Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 3.

bloedlichaampjes, kan men het volume van iedere soort gemakkelijk bepalen. Ook kan men het geheele aantal bloedlichaampjes berekenen, door in de telkamer het aantal te tellen, aanwezig in 1 mM^3 . en te vermenigvuldigen met het aantal mM^3 . De verhouding in grootte wordt berekend uit de verhouding der middellijnen. De derde macht hiervan geeft de juiste verhouding aan, immers de inhoud van een bol is $\frac{4}{3}\pi r^3$. De middellijn van een polynucleaire leucocyt is 10μ , die van een mononucleaire leucocyt, een macrophaag uit de buikholte is gemiddeld ruim 13μ . De inhoud van een polynucleaire leucocyt is dus $\frac{4}{3}\frac{22}{7}(\frac{1}{2} \times 10)^3$ dus ongeveer $4 \times 125 = 500\mu^3$; die van een mononucleaire cel $(1.3)^3 \times 500 =$ ongeveer $1250\mu^3$. De meting van de leucocyten geschiedde door middel van een *Ramsden*-oculair.

Hieronder volgen nu voorbeelden in de eerste plaats van de hoeveelheid exsudaatleucocyten verkregen bij konijnen na twee herhaalde inspuitingen op twee achtereenvolgende dagen en de afname 4 of 5 uur na de laatste inspuiting.

Bij een konijn, dat evenals de volgende niet eerder was gebruikt, werd 4¹/₂ uur na de tweede inspuiting gevonden 0.25 cc. leucoc. waarvan:

pol. leuc. 96.6 % en mon. leuc. 3.5 %.

Na correctie wegens het grootere volume der mononucleaire cellen, (deze zijn ongeveer 2.5 maal zoo groot), is het volume:

pol. leuc. 0.225 cc. en mon. leuc. 0.025 cc.,

bij konijn 2 na 5 uur: 0.25 cc. leuc. waarvan:

pol. leuc. 98.5 % en mon. leuc. 1.5 %,

het volume is dus:

pol. leuc. 0.237 cc. en mon. leuc. 0.013 cc.,

bij konijn 3 na 4 uur: 0.4 leuc., waarvan:

pol. leuc. 91.7 % en mon. leuc. 8.3 %,

dus na correctie:

pol. leuc. 0.32 cc. en mon. leuc. 0.08 cc.,

bij konijn 4 na 4 uur: 0.17 cc. waarvan:

pol. leuc. 96 % en mon. leuc. 4 %,

dus na correctie:

pol. leuc. 0.153 cc. en mon. leuc. 0.017 cc.

Nadat konijn 1 nog verschillende keeren was ingespoten met keukenzoutoplossing, werd het 14 dagen na de eerste inspuitingen wederom op twee achtereenvolgende dagen ingespoten. Nu werd na 4 uren een hoeveelheid van 0.6 cc. leucocyten verkregen, waarvan ruim 90 % polynucleaire leucocyten. Na nog weer verschillende keeren te zijn ingespoten, werd bij konijn 1 na één inspuiting een hoeveelheid leucocyten verkregen van ongeveer 2.25 cc. bijna uitsluitend polynucleaire leucocyten bevattende.

Hieruit ziet men dus een fraaie illustratie van het reeds door DE HAAN¹⁾ vermelde feit, dat een herhaalde inspuiting een grootere emigratie van polynucleaire leucocyten geeft. Dit verschijnsel treft men steeds weer aan. Zoo gaf b.v. een tweede konijn bij de eerste behandeling 0.5 cc. leucocyten en na herhaalde inspuiting 1 cc. leucocyten.

Van dit feit werd gebruik gemaakt, om groote hoeveelheden leucocyten te verkrijgen van dieren, die veel vaker waren ingespoten (hoeveelheden van 2 à 3 cc. zijn geen zeldzaamheid).

Voor mijn doel was evenwel van groot belang voor het verkrijgen van een juist inzicht in het verloop van de emigratie der leucocyten, het resultaat na te gaan bij proefdieren, die slechts éénmaal werden ingespoten voor de eerste maal. Dit is van belang, omdat men dan geen rekening behoeft te houden

¹⁾ l. c., bl. 46.

met veranderingen van den celinhoud in de buikholte en van veranderingen van weefsels in de omgeving ten gevolge van vroegere inspuitingen. (zie hoofdstuk 2). Wanneer men toch konijnen voor de eerste maal inspuit, weet men, dat slechts mononucleaire leucocyten in het transsudaat aanwezig waren. Indien men snel achter elkaar inspuit, zal steeds nog een deel van den celinhoud van het vorige exsudaat aanwezig zijn. Daarom werd NaCl 0,9 % ingespoten en op verschillende tijden de hoeveelheid leucocyten bepaald, die in het exsudaat aanwezig was. Op verschillende tijden werd een klein gedeelte van het vocht aan de buikholte onttrokken door de troicart, die voor het inbrengen was gebezigd. Deze bleef in de wond, wanneer de proef niet te lang duurde. Op de troicart was een gummi-buisje bevestigd, dat gesloten kon worden door een klem. Op deze manier kon zeer gemakkelijk een kleine hoeveelheid buikvocht worden afgetapt en opgevangen in citraatoplossing. Wanneer men dit mengsel afcentrifugeert, krijgt men een klein bodembeslag van leucocyten. Na afgieten van het vocht kan men deze weer in suspensie brengen door schudden met een weinig NaCl 0.9 % of een citraatoplossing, om ze dan verder te beoordeelen met een oplossing van LUGOL of van TÜRK. Ook kunnen er strijkpraeparaten van gemaakt worden.

Bij een systematisch onderzoek bleek mij, dat de emigratie van polynucleaire leucocyten als regel reeds na ongeveer één uur optrad. Als voorbeelden mogen dienen inspuitingen met NaCl 0.9 % bij jonge ongebruikte konijnen.

Er werd 250 cc. NaCl 0.9 % ingespoten en iedere 15 minuten een klein deel van het exsudaat afgetapt, om de verhouding der poly- en mononucl. cellen te bepalen. Het resultaat is uitgedrukt in tabel I.

TABEL I.

Intraperitoneale injectie van 250 cM³. NaCl 0.9 % bij konijn I.

Tijd van afname van het vocht gerekend vanaf de injectie in minuten.	Gehalte van het exsu- daat aan pol. leuc. in procenten.	Gehalte van het exsu- daat aan mononocl. leuc. in procenten.
0	0	100
15	0	100
30	$\frac{1}{4}$	$99\frac{3}{4}$
45	$\frac{1}{2}$	$99\frac{1}{2}$
60	19	81
75	74	26
90	87	13

Na $1\frac{1}{2}$ uur werd alle vocht afgetapt en de buikholte nage-
spoeld met keukenzoutoplossing. Door haematokriten werd de
geheele hoeveelheid leucocyten bepaald op 0.012 cc., hiervan
zijn: pol. leuc. 0.0085 cc. en mon. leuc. 0.0036 cc. Van een
op dezelfde wijze verricht onderzoek bij twee volgende konijnen
is het resultaat neergelegd in tabel II en III.

TABEL II.

Intraperitoneale injectie van 250 cM³. NaCl 0.9 % bij konijn II.

Tijd van afname van het vocht gerekend vanaf de injectie in minuten.	Gehalte van het exsu- daat aan pol. leuc. in procenten.	Gehalte van het exsu- daat aan mononocl. leuc. in procenten.
0	0	100
60	< 1	< 99
90	90	10
180	99	1
240	$> 99\frac{1}{2}$	$< \frac{1}{2}$

Hier werd na 4 uren alle buikvocht afgetapt en de buikholte eveneens nagespoeld met NaCl 0.9 ‰. Het totaalvolume der leucocyten werd weder door haematokriten bepaald en was 0.053 cc. waarvan waren:

pol. leuc. 0.05247 cc. en mon. leuc. 0.00053 cc.

TABEL III.

Intraperitoneale injectie van 250 cM³. NaCl 0.9 ‰ bij konijn III.

Tijd van afname van het vocht, gerekend vanaf de injectie in minuten.	Gehalte van het exsudaat aan pol. leuc. in procenten.	Gehalte van het exsudaat aan mononuc. leuc. in procenten.
0	0	100
60	< 1	> 99
90	55	45
180	99	1
240	< 99½	< ½

Ook hier werd de buikholte weer leeggespoeld en de hoeveelheid leucocyten na 4 uren bepaald op 0.06 cc., waarvan:

pol. leuc. 0.0594 cc. en mon. leuc. 0.0006 cc.

Uit deze tabellen kan men lezen, dat het optreden der polynucleaire leucocyten in het exsudaat niet direct begint, maar eerst na ongeveer één uur, waarna de toename verder zeer snel in zijn werk gaat. Uit het feit, dat bij deze snelle toename het procentgehalte van de mononucleaire cellen zeer snel teruggaat, mag wel met groote waarschijnlijkheid worden afgeleid, dat het aantal van deze cellen in de eerste uren niet noemenswaard kan zijn toegenomen. Op het verschijnsel, dat eerst na

verloop van één uur de emigratie in het exsudaat zichtbaar wordt, kom ik in een later hoofdstuk nog weer terug.

Zooals uit de voorgaande tabellen blijkt, was in het eerste geval, waar na $1\frac{1}{2}$ uur de buikinhoud was uitgespoeld, het aantal mononucleaire leucocyten niet kleiner dan in het tweede en derde geval na 4 uren. Hieruit en uit den geweldigen vooruitgang van het aantal polynucleaire leucocyten ten nadeele van de mononucleaire leucocyten, moet geconcludeerd worden, dat tot 4 uren na de inspuiting het aantal mononucleaire leucocyten niet noemenswaard vermeerderd.

Daar bij een tweemaalige inspuiting zooals reeds door DE HAAN terloops aangegeven bij versche konijnen altijd een veel grooter volume monocleaire leucocyten werd verkregen, moest verondersteld worden, dat tusschen 4 uren en 24 uren na de inspuiting het aantal mononucleaire leucocyten snel vermeerderd.

Om het verloop hiervan na te gaan, werden de konijnen, die gebruikt waren in de gevallen van tabel II en III, nadat ze leeggehaald waren na de eerste inspuiting, weer ingespoten met 250 cc. NaCl 0.9 %. Bij het konijn van tabel II werd na 18 uren het buikvocht weer uitgeheveld en nagespoeld met keukenzoutoplossing. Het totaalvolume der verkregen leucocyten was 0.28 cc. waarvan:

pol. leuc. 84 % en mon. leuc. 16 %,

dus volgens berekening:

pol. leuc. 0.224 cc. en mon. leuc. 0.056 cc.

Bij het konijn van tabel III werd na 22 uren afgetapt. Het totaalvolume der leucocyten was 0.06 cc., waarvan:

pol. leuc. 80 % en mon. leuc. 20 %,

dus volgens berekening:

pol. leuc. 0.036 cc. en mon. leuc. 0.024 cc.

Verder werd bij twee oude konijnen, die reeds herhaaldelijk waren gebruikt voor inspuitingen in de buikholte, den dag te voren 250 cc. keukenzoutoplossing ingebracht en den volgende dag na 18 en 24 uren de buikholte leeggehaald en nagespoeld. Bij het eene konijn werd na 18 uren gevonden 0.475 cc. leucocyten waarvan:

pol. leuc. 70 % en mon. leuc. 30 %,

dus volgens berekening:

pol. leuc. 0.285 cc. en mon. leuc. 0.19 cc.

Bij het andere werd na 24 uren een hoeveelheid van 0.186 cc. leucocyten verkregen, waarvan:

pol. leuc. 82 % en mon. leuc. 18 %,

en volgens berekening:

pol. leuc. 0.112 cc. en mon. leuc. 0.074 cc.

In de vier laatste gevallen was opvallend, dat zeer vele mononucleaire leucocyten een of meer polynucleaire leucocyten hadden gefagocyteerd; verder waren meer kleinere mononucleaire cellen aanwezig dan na 4 uren.

Het feit, dat de mononucleaire leucocyten in de eerste uren in het exsudaat niet in aantal toenemen, pleit daarvoor, dat ze niet uit het bloed stammen, maar uit de omgeving.

Vervolgens werd nog het verloop van het exsudaat na langeren tijd nagegaan. Van een 6tal konijnen, dat ieder met 250 cc. NaCl 0.9 % was ingespoten, werd telkens bij een tweetal de buikinhoud gecontroleerd, respectievelijk na 2, 3 en 4 dagen.

Het gemiddelde resultaat was:

na 2 dagen: totale hoeveelheid leucocyten 0.135 cc., waarvan:

pol. leuc. 12 % en mononucle. leuc. 88 %,

gecorrigeerd: pol. leuc. 0.00675 cc. en mononucle. leuc. 0.128 cc.,

na 3 dagen: pol. leuc. 13 % en mononucle. leuc. 87 %,

gecorrigeerd: pol. leuc. 0.003 cc. en mononucle. leuc. 0.057 cc.,

na 4 dagen: pol. leuc. 10 % en mononuc. leuc. 90 %, gecorrigeerd: pol. leuc. 0.0016 cc. en mononuc. leuc. 0.0384 cc.

De mononucleaire leucocyten waren meestal zeer groot en hadden een macrophagenkarakter, terwijl bij een enkel proefdier een kleiner type mononucleaire cel overwoog ter grootte van groote lymphocyten. Hier waren eveneens ongeveer evenveel polynucleaire cellen door macrophagen gefagocyteerd als er vrij in het exsudaat aanwezig waren.

Uit deze onderzoeken blijkt dus, dat door het inspuiten van physiologische keukenzoutoplossing in de buikholte van een konijn:

1. *altijd emigratie van polynucleaire leucocyten ontstaat,*
2. *deze emigratie in het exsudaat na ongeveer 1 uur merkbaar begint te worden,*
3. *deze emigratie in de eerste uren steeds doorgaat,*
4. *de mononucleaire cellen gedurende de eerste uren niet vermeerderen,*
5. *dit wel het geval is wanneer de termijn langer wordt genomen bijv. van 18 tot 24 uren of langer,*
6. *de polynucleaire leucocyten worden gefagocyteerd door mononucleaire cellen,*
7. *per slot van rekening alle polynucleaire leucocyten verdwijnen, terwijl alleen mononucleaire cellen overblijven.*

Inspuitingen met stijfseloplossingen in NaCl 0.9 %.

Om te onderzoeken, of aan stijfsel een chemotactische werking toegeschreven moet worden, werd een reeks van proeven gedaan om te onderzoeken, of de toevoeging van stijfsel aan een physiologische keukenzoutoplossing, zooals bij de vorige

proeven werd gebruikt, invloed had op de vorming van een exsudaat in de buikholte en op de emigratie van leucocyten. Tot dit doel werd 1 gram stijfsel opgelost in 200 à 250 cc. NaCl 0.9 %. Bij een konijn werd op twee achtereenvolgende dagen 200 cc. van deze stijfselkeukenzoutoplossing in de buikholte gebracht en 4 uren na de laatste inspuiting daaruit geheveld en de buikholte nagespoeld. Er werd verkregen een hoeveelheid van 0.3 cc. leucocyten waarvan:

pol. leuc. 90 % en mon. leuc. 10 %,

dus volgens berekening:

pol. leuc. 0.234 cc. en mon. leuc. 0.066 cc.

Eenige dagen later werd hetzelfde konijn weer ingespoten op twee achtereenvolgende dagen. Toen werd na 4 uren verkregen 0.5 cc. leucocyten, waarvan:

pol. leuc. 90 % en mon. leuc. 10 %,

dus volgens berekening:

pol. leuc. 0.39 cc. en mon. leuc. 0.11 cc.

Een week daarna werd het konijn weer ingespoten op dezelfde manier en werd verkregen 1.2 cc. leucocyten waarvan:

pol. leuc. 90 % en mon. leuc. 10 %,

dus volgens berekening:

pol. leuc. 0.9 cc. en mon. leuc. 0.3 cc.

Bij een ander konijn werden soortgelijke resultaten verkregen. Weer werd op twee achtereenvolgende dagen ingespoten en 4 uren na de laatste inspuiting werd een hoeveelheid leucocyten verkregen van 0.75 cc. waarvan:

pol. leuc. 90 % en mon. leuc. 10 %

dus volgens berekening

pol. leuc. 0.575 cc. en mon. leuc. 0.175 cc.

Twee weken daarna werd, nadat in dien tusschentijd verschillende keeren was ingespoten, weer op twee achtereenvolgende

dagen ingespoten en 4 uren na de laatste keer werden 2 cc. leucocyten afgetapt, grootendeels uit polynucleaire leucocyten bestaande; de verhouding werd in dit geval niet bepaald. Een maand daarna werd weer op twee achtereenvolgende dagen ingespoten en 4 uren na de laatste inspuiting werd een hoeveelheid van 1.89 cc. leucocyten afgenomen, waarvan:

pol. leuc. 94.5 % en mon. leuc. 5.5 %,

gecorrigeerd: pol. leuc. 1.682 cc. en mon. leuc. 0.208 cc.

Uit deze voorbeelden blijkt wel, dat vroegere praeparatie van een konijn, al is deze betrekkelijk lang geleden, de hoeveelheid verkregen exsudaatcellen onder overigens dezelfde omstandigheden, belangrijk doet stijgen.

Voorloopig blijkt bij vergelijking van *stijfselkeukenzoutoplossing* en *keukenzoutoplossing alleen*, dat er geen noemenswaard verschil is tusschen de door beide vloeistoffen veroorzaakte emigratie van leucocyten, dat er dus geen reden is om aan de stijfsel een aanlokkende werking in dezen toe te schrijven.

Inspuitingen met andere chemische stoffen in waterige oplossing.

Om te onderzoeken in hoeverre van chemotaxis sprake was bij het uittreden van polynucleaire leucocyten, werd ook met andere stoffen dan NaCl ingespoten. Zoo werden o.a. daarvoor isotonische oplossingen van NaHCO_3 , Na_2SO_4 en Na_2HPO_4 gebruikt.

Wat ook werd ingespoten, het resultaat was steeds hetzelfde; na verloop van ongeveer één uur verschenen talrijke polynucleaire leucocyten in het exsudaat. Het maakte den indruk, dat *alle electrolyten dezelfde aanleiding gaven tot emigratie van polynucleaire leucocyten*. Daarom werd ook overgegaan tot het inspuiten van nietelectrolyten.

Inspuitingen met nietelectrolyten.

Daar ik door het inspuiten van allerlei electrolyten steeds dezelfde reactie verkreeg, n.l. het emigreeren van polynucleaire leucocyten, leek het mij gewenscht, te onderzoeken, in hoeverre nietelectrolyten ook in staat waren, emigratie van leucocyten te veroorzaken. Tot dit doel werden, ter vergelijking met physiologische keukenzoutoplossing, isotonische waterige oplossingen van glucose 4.15 % en rietsuiker 8 % in de buikholte van konijnen ingespoten. Het verloop na inspuiting van glucose-oplossing bij een jong ongebruikt konijn was als aangegeven is in tabel IV.

TABEL IV.

Intraperitoneale injectie van 250 cm³ glucose 4.15 % bij konijn IV.

Tijd van afname van het vocht, gerekend vanaf de injectie in minuten.	Gehalte van het exsudaat aan pol. leuc. in procenten.	Gehalte van het exsudaat aan mononuc. leuc. in procenten.
0	0	100
15	0	100
30	0	100
45	0.1	99.9
60	0.5	99.5
75	40	60
90	66	34

Na 1½ uur werd alle vocht uit de buikholte geheveld en nagespoeld met keukenzoutoplossing. De geheele hoeveelheid leucocyten bedroeg 0.012 cc., waarvan:

pol. leuc. 0.06 cc. en mon. leuc. 0.006 cc.

Hetzelfde resultaat werd verkregen met rietsuikeroplossingen.

Hiermede werd eveneens een ongebruikt jong konijn ingespoten en het resultaat neergelegd in tabel V.

TABEL V.

Intraperitoneale injectie van 250 cm³ rietsuiker 8 % bij konijn V.

Tijd van afname van het vocht, gerekend vanaf de injectie in minuten.	Gehalte van het exsu- daat aan pol. leuc. in procenten.	Gehalte van het exsu- daat aan mononucl. in procenten.
0	0	100
30	0	100
60	< 0.5	> 99.5
90	60	40

Na 1½ uur was de geheele hoeveelheid leucocyten, die afgetapt werd 0.009 cc., waarvan:

pol. leuc. 0.003 cc. en mon. leuc. 0.006 cc.

Bij een meermalen gebruikt konijn was de emigratie veel grooter, daar was de totale hoeveelheid leucocyten, die afgetapt werd na 1½ uur 0.1 cc. waarvan:

pol. leuc. 70 % en mon. leuc. 30 %

of gecorrigeerd:

pol. leuc. 0.05 cc. en mon. leuc. 0.05 cc.

Werd de tijd, die verloopt tusschen het inbrengen der suikero oplossingen en tusschen het uithalen grooter genomen, dan was ook de verhouding tusschen het aantal polynucleaire leucocyten en het aantal mononucleaire leucocyten anders. Zoo werd bij een konijn, dat 4 uren van tevoren met 250 cc. glucose-oplossing 4.15 % was ingespoten, een leucocyten suspensie uit de buikholte gehaald, bevattende:

pol. leuc. 98 % en mon. leuc. 2 %.

De geheele hoeveelheid leucocyten was niet bepaald.

Bij een ander konijn, dat gelijk was behandeld, werd een suspensie afgetapt, die bevatte:

pol. leuc. 96 % en mon. leuc. 4 %.

Deze proeven werden met rietsuikeroplossingen van 8 % herhaald. Ook hier werd na 4 uren de verhouding der polynucleaire en de mononucleaire leucocyten bepaald. Deze bedroeg bij het eerste konijn:

pol. leuc. 98 % en mon. leuc. 2 %

en bij het tweede konijn:

pol. leuc. 95 % en mon. leuc. 5 %.

Verder werd nagegaan het resultaat van twee herhaalde inspuitingen op twee achtereenvolgende dagen. Het exudaat werd 4 uren na de laatste inspuiting afgetapt en de buikholtte nagespoeld. Bij inspuiting met glucoseoplossing werd verkregen een hoeveelheid van 0.3 cc. leucocyten waarvan:

pol. leuc. 90 % en mon. leuc. 10 %

en dus volgens berekening:

pol. leuc. 0.24 cc. en mon. leuc. 0.06 cc.

Bij inspuiting van een isotonische rietsuikeroplossing was het resultaat vrijwel gelijk aan dat van glucose. Het totaal aantal leucocyten werd niet bepaald, maar de verhouding der soorten was:

pol. leuc. 90 % en mon. leuc. 10 %.

Uit deze proeven blijkt, dat *nietelectrolyten als glucose en rietsuikeroplossingen dezelfde werking uitoefenen als electrolyten.*

Inspuitingen met vloeistoffen, die de chemische samenstelling van het bloed naderen.

Wanneer men zich op het standpunt stelt, dat bij inspuiting van vreemde stoffen, deze laatste een specifieke aanlokkende

werking uitoefenen, waardoor emigratie tot stand komt, zou men kunnen verwachten, dat deze prikkel uit moet blijven, als het ingespoten materiaal zooveel mogelijk physiologisch wordt, d. w. z. in ongeveer dezelfde samenstelling normaal in het weefsel voorkomt. Op dit standpunt stellen zich BÜRGER en DOLD ¹⁾, die meenen gevonden te hebben, dat inspuiting van steriel soorteigen serum geen emigratie van polynucleaire leucocyten veroorzaakt. Zij spoten kleine hoeveelheden steriel soorteigen serum in de knieholte van een konijn in. Zij vonden een dag daarna geen of weinig emigratie van leucocyten, wel indien zij vreemd of geïnfecteerd serum inspotten.

Wij kunnen verder in dit verband de meening van FRIEDEMANN en SCHÖNFELD ²⁾ vermelden over den invloed van de viscositeit op de amoëboïde beweeglijkheid en de emigratie der leucocyten. Zij achten amoëboïde beweeglijkheid alleen mogelijk in een visceus milieu en emigratie alleen daar, waar tusschen het bloedplasma en het exsudaat een verschil in viscositeit bestaat ten nadeele van het exsudaat. Zij achten evenwel, evenals BUCHNER ³⁾, emigratie naar een plaats, die te geringe viscositeit bezit, onmogelijk.

Reeds DE HAAN ⁴⁾ had hieromtrent enkele voorloopige proeven gedaan, welke de meening van FRIEDEMANN en SCHÖNFELD onhoudbaar maken, maar daarbij zelf het voorbehoud gemaakt, dat hierbij niet was onderzocht serum en verder, dat de onderzochte konijnen alreeds vroeger waren ingespoten.

Zoowel de beweringen van BÜRGER en DOLD als die van

¹⁾ BÜRGER en DOLD, Zeitschr. f. Imm. Forsch. Original., Bnd. 21, p. 378, 1914.

²⁾ FRIEDEMANN en SCHÖNFELD, Biochem. Zeitschr. 80, p. 312.

³⁾ BUCHNER, Münch. med. Wochenschr., 1890.

⁴⁾ l. c., bl. 129.

FRIEDEMANN en SCHÖNFELD konden getoetst worden, door te onderzoeken in hoeverre inspuiting met physiologische vloeistoffen, zooals serum, ultrafiltraat daarvan en Ringer's vloeistof aanleiding geven tot de vorming van een exsudaat met emigratie van leucocyten. Het zal verder blijken uit mijn proeven, dat de bewering van BÜRGER en DOLD van grond ontbloot is. Eveneens worden de beweringen van FRIEDEMANN en SCHÖNFELD door de feiten achterhaald.

Allereerst werden proeven gedaan met RINGER's vloeistof, zooals die door BRINKMAN ¹⁾ is gewijzigd voor konijnen. Evenals vroeger werd op 2 achtereenvolgende dagen steeds 250 cc. Ringer's vloeistof bij een ongebruikt konijn ingespoten; 5 uren na de laatste inspuiting werd het vocht uit de buikholte geheveld en gespoeld. Het exsudaat bevatte 0.25 cc. leucocyten, waarvan:

pol. leuc. 98.5 % en mon. leuc. 1.5 %,

dus volgens berekening:

pol. leuc. 0.24 cc. en mon. leuc. 0.01 cc.

Deze reactie wijkt op geen enkele manier af van die door NaCl 0.9 %, zoodat wij dus de reactie als volkomen gelijkwaardig kunnen bestempelen.

Verder werd bij een ongebruikt konijn 200 cc. ultrafiltraat van een rund ingespoten in de buikholte en dit den volgenden dag herhaald. De buikholte werd 4½ uur na de laatste injectie leeggeheveld en nagespoeld. De hoeveelheid leucocyten in het exsudaat was 0.5 cc. waarvan:

pol. leuc. 95 % en mon. leuc. 5 %

en dus het volume:

pol. leuc. 0.46 cc. en mon. leuc. 0.04 cc.

1) R. BRINKMAN, Biochem. Zeitschr. 108. pag. 35, 1920.

De inspuiting van ultrafiltraat van serum veroorzaakt dus alweer dezelfde reactie als die van alle andere stoffen.

Bij een volgend konijn werd twee dagen achter elkaar 200 cc. ultrafiltraat van runderserum met 40 cc. konijneserum ingebracht. 4 uren na de laatste inspuiting werd uit de buikholte 1 cc. leucocyten verzameld door uithevelen en naspoelen; hiervan waren:

pol. leuc. 97 % en mon. leuc. 3 %

dus het volume is:

pol. leuc. 0.94 cc. en mon. leuc. 0.06 cc.

Met toevoeging van serum blijft de reactie dus gelijk aan die van ultrafiltraat.

Bij een ongebruikt konijn werd 2 dagen achter elkaar 100 cc. steriel konijneserum intraperitoneaal ingebracht. 4 uren na de laatste inspuiting werd een visceuze vloeistof afgetapt (brekings-index bij 17.5° C. 1.3441) en de buik verder nagespoeld. Er waren aanwezig 0.75 cc. leucocyten, waarvan:

pol. leuc. 88 % en mon. leuc. 12 %,

het volume is dus:

pol. leuc. 0.525 cc. en mon. leuc. 0.225 cc.

Vijf dagen daarna werd weer 100 cc. konijneserum steriel ingespoten bij het zelfde konijn. Het afgetapte vocht (brekings-index bij 17.5° C. 1.3437) bevatte 0.5 cc. leucocyten, waarvan:

pol. leuc. 90 % en mon. leuc. 10 %,

het volume was dus:

pol. leuc. 0.4 cc. en mon. leuc. 0.1 cc.

Herhaaldelijk werd door mij steriel serum ingespoten voor andere doeleinden. Ofschoon het totaalvolume niet werd bepaald, kon ik altijd een rijke emigratie van leucocyten constateeren.

Uit deze proeven blijkt, dat *serum, ultrafiltraat van serum en Ringer's vloeistof alle op dezelfde manier werken.*

Het min of meer visceus zijn van de vloeistof geeft absoluut geen onderscheid. Duidelijk blijkt, dat en de beweringen van BÜRGER en DOLD over het niet veroorzaken van emigratie door soorteigen serum en die van FRIEDEMANN en SCHÖNFELD over het viscositeitsverval, dat tusschen het bloed en het exsudaat moet bestaan om tot emigratie aanleiding te geven, niet waar kunnen zijn.

Inspuitingen met oleum olivarum en paraffinum liquidum.

De tot nu toe gebruikte stoffen waren alle in waterige oplossing; het inbrengen hiervan bracht dus steeds met zich mee het inbrengen van water. De mogelijkheid bestond, dat de vorming van het exsudaat met deze aanwezigheid van water in verband stond. Het leek daarom aangewezen, om nu ook nog de werking van stoffen te onderzoeken, welke zonder water als voermiddel konden worden ingespoten. Ik koos daarvoor neutrale olijfolie en paraffinum liquidum.

Veelal wordt in de literatuur aangegeven, dat vetachtige stoffen een electief chemotactische werking op de mononucleaire leucocyten uitoefenen; daardoor zou een exsudaat van uitsluitend mononucleaire leucocyten ontstaan.

WOLFF en v. TORDAY¹⁾ schijnen de eersten te zijn, die door vetachtige substanties lymphocytenrijke exsudaten verwekten en een chemotaxis hebben vermoed als oorzaak van de emigratie der mononucleaire leucocyten.

S. BERGEL²⁾ gelooft het bewijs geleverd te hebben der electief-

1) A. WOLFF en A. v. TORDAY, Berlin. klin. Wochenschr. n^o. 49, bl. 1273. 1904.

2) S. BERGEL, Die Lymphocytose, Springer. Berlijn 1921.

chemotactische werking op deze cellen van vet en lipoiden stoffen. Naar aanleiding van de aanwezigheid van een vetsplitsend ferment in de lymphocyten verklaart hij, dat bij een overvloedige vetvoeding, het aantal lymphocyten zou toenemen en brengt dit in verband met de aanwezigheid van een vetsplitsend ferment. Het ontstaan van een meer lymphocytair bloedbeeld bij hongerende personen wordt door hem verklaard daardoor, dat het lichaamsvet zou worden afgebroken door het vetsplitsende ferment der lymphocyten in het bloed, (dat vetrijker zou zijn bij hongerende personen). Als verder argument voor de aanlokkende werking van vet op lymphocyten wordt aangehaald het lymphocytair bloedbeeld bij tuberculose, lepra en lues, dat veroorzaakt zou worden door microben, die een vetachtige natuur bezitten. De plaatselijke en algemeene lymphocytose zou dus een reactie zijn tegen de lipoiden microben. De lymphocyten zouden krachtens hun lipolytisch ferment een specifiek wapen zijn tegen de tubercelbacillen, die alleen door lymphocyten zouden worden opgenomen. Dezelfde omstandigheden zouden zich voordoen bij lepra en lues; het lipoiden karakter der ziekteverwerkers van tuberculose, lepra en lues wordt dus in verband gebracht met het lymphocytair bloedbeeld, lymphklierzwellen, vetsplitsing en WASSERMANN-reactie.

Zijn beschouwingen vat BERGEL als volgt samen: „Es ist ein allgemeines biologisches Gesetz, das durch noch viele andre anatomische, klinische und experimentelle Befunde gestützt ist, dass Substanzen, Krankheitserreger Fett — bzw. lipoidhaltigen Characters, die Lymphocyten chemotactisch anlocken, dass auf fetthaltige Antigene die Lymphocyten als Antikörperbildner reagieren, die des Antigen abbauen, zerstören.”

BERGEL spoot kleine hoeveelheden Mandelöl, Knochenöl, een

10 % lecithineemulsie in olie in de buik- en pleuraholte in. De afname geschiedde door capillairen.

Na 4 à 5 uren vond hij weinig cellen en het vet gedeeltelijk geemulgeerd,

na 10 à 12 uren veel polynucleaire leucocyten en ook lymphocyten,

na 24 uren nog veel polynucleaire leucocyten en tevens meer mononucleaire leucocyten van verschillende grootte en vorm met pseudopodien en met phagocytose van vetdruppels,

na $1\frac{1}{2}$ à 2 dagen zijn slechts nog weinig polynucleaire leucocyten aanwezig en neemt het aantal mononucleaire leucocyten steeds toe, die beginnen te gelijken op groote mononucleairen en overgangscellen,

na 5 à 7 dagen zijn geen polynucleaire cellen meer aanwezig, maar alleen groote en ook kleinere lymphocyten, terwijl later de kleine lymphocyten meer op den voorgrond treden.

Opvallend is de groote overeenkomst tusschen deze gegevens en het verloop van de exsudaatvorming, door ons gevonden na inspuiting van de reeds vermelde stoffen.

Treffend is bij de onderzoeken van BERGEL, dat terwijl hij bij zijn onderzoeken in de eerste 2 dagen hoofdzakelijk polynucleaire cellen in het exsudaat ziet verschijnen, daaraan geen aandacht schenkt, maar wel aan de mononucleaire leucocyten, die pas eenige dagen daarna in het exsudaat optreden.

Waarom de mononucleairen in de eerste dagen geen gehoor geven aan de chomotaxis, die zich dan toch zeer sterk zou moeten laten gelden, is op zijn minst genomen raadselachtig. Veel meer valt er voor te zeggen, dat de polynucleaire leucocyten door chemotaxis worden aangetrokken en pas later de macrophagen komen om de overblijfselen van het ontstekings-

proces te elimineeren door phagocytose en door weefselnieuwvorming.

Mijn eigen onderzoekingen hierover verricht, werden oorspronkelijk niet ter contrôle van BERGEL's mededeelingen ver richt, maar uitsluitend, zooals reeds medegedeeld, ter vergelijking van den invloed van een waterig met die van een niet waterig injectiemateriaal. Eerst later kreeg ik kennis van BERGEL's opvattingen.

Voor het inspuiten in de buikholte werd door mij oleum olivarum van de Pharmacopea Neerlandica gebruikt, die niet zuur reageerde. De olie werd evenals alle andere ingespoten vloeistoffen eerst gesteriliseerd door verwarmen tot 100° Celsius. Er werden vrij groote hoeveelheden ingespoten, eerst ongeveer ongeveer 100 cc., welke hoeveelheid later verlaagd werd tot 50 cc., omdat de proefdieren er te sterk op reageerden. Op verschillende tijden werd het exsudaat weer afgetapt; dit gebeurde altijd door het op te vangen in een citraatoplossing om de fibrinestolling tegen te gaan. Zeer vaak ook was het noodig, vooral als men het exsudaat quantitatief wilde verkrijgen, dat de buikholte nagespoeld werd met keukenzoutoplossing of een andere vloeistof. Het was namelijk dikwijls noodig om de dikke vetemulsie, die in de buikholte aanwezig was, eerst te verdunnen, ten einde een gemakkelijker en vollediger afname te bewerkstelligen. Ik laat hier direct volgen het resultaat van de inspuiting op twee achtereenvolgende dagen iedere keer met 50 cc. oleum olivarum. 4½ uur na de laatste inspuiting werd het exsudaat, dat een olieemulsie was geworden, quantitatief verzameld door de buikholte met een groote hoeveelheid NaCl 0.9 % na te spoelen. Na centrifugeeren werd de bovendrijvende olie verwijderd en het bodembeslag van leucocyten weer in suspensie gebracht met een weinig keukenzoutoplossing en

de hoeveelheid door haematokriten bepaald. Deze bedroeg 0.7 cc., waarvan:

pol. leuc. 96 % en mon. leuc. 4 %,

het volume was dus:

pol. leuc. 0.63 cc. en mon. leuc. 0.07 cc.

Uit deze proef blijkt dus niets van een positieve chemotaxis van de oleum olivarum ten opzichte van de mononucleaire cellen. Er zijn ongeveer evenveel mononucleaire leucocyten aanwezig, als bij iedere andere inspuiting aanwezig geweest zouden zijn. Integendeel vinden we hier in eerste instantie een emigratie van massa's polynucleaire leucocyten.

Het bleek mij, dat ook hier deze emigratie van polynucleaire leucocyten in zeer korten tijd tot stand komt. Zoo kon bij een konijn, dat reeds voor geruimen tijd éénmaal een olie-inspuiting had gehad, reeds 5 uren na een hernieuwde inspuiting een groote hoeveelheid polynucleaire leucocyten uit de buikholte worden verwijderd, namelijk 1 cc. leucocyten waarvan:

pol. leuc. 90 % en mon. leuc. 10 %

het volume is dus:

pol. leuc. 0.8 cc. en mon. leuc. 0.2 cc.,

van welke laatste reeds een groot gedeelte van tevoren aanwezig moet zijn geweest, blijkens verdere waarnemingen over het verloop van een olieleucocytenexsudaat.

Om het verloop van de emigratie hier te kunnen beoordeelen, werd op verschillende dagen na de injectie van olie een proef uitgenomen, om de verhouding van het aantal mononucleaire leucocyten en het aantal polynucleaire leucocyten te bepalen. Hiertoe is in dit geval de mogelijkheid, omdat verwacht kon worden, dat de ingespoten olie in tegenstelling met bijv. NaCl 0.9 %, langeren tijd in de buikholte aanwezig zou blijven en dus gedurende dien tijd een voortdurende contrôle van de

aanwezige cellen mogelijk zou zijn. Werkelijk bleek ook, dat de olieemulsie vrijwel een onbeperkt langen tijd in de buikholte bleef bestaan. Het spreekt vanzelf, dat hier dan het totaal-volume niet kon worden bepaald.

Bij een ongebruikt konijn werd 60 cc. oleum olivarum in de buikholte gebracht en na 5 uren een proef genomen, die bevatte:

pol. leuc. bijna 100 % en mon. leuc. minder dan $\frac{1}{2}$ %.

Na één dag bevatte het exsudaat:

pol. leuc. 90 % en mon. leuc. 10 %,

na twee dagen:

pol. leuc. 70 % en mon. leuc. 30 %,

na 7 dagen:

pol. leuc. 10 % en mon. leuc. 90 %.

De polynucleaire leucocyten waren na 2 dagen reeds vrij sterk gedegenereerd, het vocht was slijmerig, dradentrekkend. Na een week is bijna geen ongeschonden polynucleaire leucocyt meer aanwezig, maar wel veel celresten, die bij kleuring nog te herkennen zijn als afkomstig van polynucleaire leucocyten. Deze celresten zijn in de telling niet inbegrepen. Nog kan vermeld worden, dat de cellen een sterke nijging hadden tot agglutinatie.

Bij een tweede eveneens ongebruikt konijn werd ongeveer hetzelfde resultaat verkregen.

Na $4\frac{1}{2}$ uur:

pol. leuc. 97 % en mon. leuc. 3 %,

na 3 dagen:

pol. leuc. 25 % meerendeels sterk gedegenereerd en
mon. leuc. 75 %,

na 20 dagen:

pol. leuc. enkele resten en mon. leuc. ± 100 %, die

zooals steeds het geval was, veelal vet hadden gefhagocyteerd.

Bij nog een ander konijn, dat voor een maand was ingespoten met 50 cc. oleum olivarum, werd bij punctie een olieemulsie verwijderd, die nog veel mononucleaire leucocyten bevatte, van de grootste macrophagen tot de kleinste lymphocyten. De meeste hadden olie gefhagocyteerd.

4 $\frac{1}{2}$ uur na een hernieuwde inspuiting met 50 cc. oleum olivarum werd een emulsie afgetapt met:

pol. leuc. 50 % en mon. leuc. 50 %.

na 1 dag:

nog ongeveer 50 % gedeeltelijk reeds gedegenerende pol. leuc. en 50 % mon. leuc.

na 2 dagen:

20 % sterk gedegenerende pol. leuc. en 80 % mon. leuc., groot en klein, die bijna alle vet hadden gefhagocyteerd, verder ontelbare resten van polynucleaire leucocyten.

na 7 dagen:

10 % slecht geconserveerde pol. leuc. en 90 % mon. leuc., groot en klein bijna alle met vet gefhagocyteerd, verder veel schimmen van polynucleaire leucocyten.

Naar allen schijn kan op deze wijze betrekkelijk gemakkelijk een vrij groote hoeveelheid levenskrachtige mononucleaire leucocyten worden verkregen. Om nu te onderzoeken, in hoeverre inderdaad olieinspuitingen konden worden gebruikt als methode tot verkrijgen van mononucleaire leucocyten, werd de hoeveelheid cellenmateriaal op die wijze na een aantal dagen verkregen, quantitatief bepaald. Uit de nu volgende resultaten blijkt, dat men inderdaad langs dezen weg de beschikking krijgt over een zeer aanmerkelijke hoeveelheid cellenmateriaal.

Een konijn werd ingespoten met oleum olivarum en na 9 dagen werd een hoeveelheid leucocyten verkregen van ruim

$\frac{1}{2}$ cc., waarvan 90 % mononucleaire leucocyten en 10 % reeds zeer sterk gedegenereerde polynucleaire leucocyten, dus ongeveer een halve cc. mononucleaire leucocyten.

Bij een ander konijn werd na twee weken 1 cc. uitsluitend mononucleaire leucocyten verkregen voor het meerendeel met olie gephagocyteerd.

Uit deze laatste proef blijkt, dat een inspuiting van oleum olivarum na verloop van één tot twee weken in staat is, een groote hoeveelheid mononucleaire leucocyten te leveren.

Het kan zijn nut hebben op deze methode tot verkrijgen van mononucleaire leucocyten te wijzen, omdat men dan niet zijn toevlucht behoeft te nemen tot het fijnmaken en uitschudden van lymphoide organen, wat steeds met een niet controleerbare celbeschadiging gepaard gaat. Nog beter dan oleum olivarum voor dit doel geschikt is paraffine, dat zooals we direct zullen zien een analoge reactie in de buikholte teweeg brengt.

Wanneer wij nu mijn resultaten toetsen aan de meening van BERGEL, dan kan ik *voorloopig volstaan met te constateeren, dat door inspuiting van oleum olivarum, de eerste reactie in geen enkel opzicht verschilt van die, welke het gevolg is van de inspuiting van de vroeger onderzochte stoffen. Wel is waar komt het naderhand tot een aanmerkelijke ophooping van mononucleaire leucocyten, maar dit kan zeker niet zooals BERGEL wil, worden uitgelegd als een specifieke chemotactische invloed van vetten op het lymphocyttaire celtype, immers in beginsel was deze reactie ook aanwezig bij de inspuiting van andere stoffen in de latere perioden, alleen in quantitatief andere verhoudingen.*

Wij zullen nu zien aan het exsudaatverloop na inspuiting van vloeibare paraffine, dat ook het groote aantal mononucleaire cellen niet specifiek is voor vetten, maar ook evenzeer op andere wijze kan tot stand komen. Tot slot zij hier nog vermeld,

dat inspuiting met olie bij het konijn vaak onaangename nevenwerkingen meebrengt. De eerste uren na de inspuiting is het dier vaak eenigszins gecollabeerd, soms met lethaal verloop na enkele uren. Ook na langeren tijd (eenige dagen) kwamen nu en dan nog sterfgevallen voor.

Heel eigenaardig was het verloop in één enkel geval, dat toevallig nader werd onderzocht en misschien onopgemerkt ook wel bij andere konijnen is voorgekomen. De beschrijving hiervan is te vinden in hoofdstuk 2.

Oleum olivarum zou zeer goed chemische eigenschappen kunnen bezitten, of door omzetting in het lichaam verkrijgen, die emigratie bewerkten; daarom werd door mij een totaal indifferente vloeistof als injectiemiddel gekozen om vergelijkende proeven te doen naast oleum olivarum. Hiervoor werd paraffinum liquidum gekozen. Het verloop bleek hier volkomen analoog te zijn aan dat van vetinspuiting, zooals blijkt uit de volgende voorbeelden.

Eerst werd een konijn weer op twee achtereenvolgende dagen ingespoten, iedere maal met 60 cc. paraffinum liquidum. Op den tweeden dag werd 5 uren na de inspuiting, de buikinhoud uitgeheveld en nagespoeld en werd een hoeveelheid van 0.75 cc. leucocyten verkregen waarvan:

pol. leuc. 93 $\frac{0}{0}$ en mon. leuc. 7 $\frac{0}{0}$,

het volume is dus:

pol. leuc. 0.63 cc. en mon. leuc. 0.12 cc.

Bij een ander ongebruikt konijn werd 50 cc. paraffine ingespoten en 4 uren daarna de buikholte leeggespoeld. Het totaal volume der aanwezige leucocyten, dat niet groot was, werd niet bepaald. De verhouding der soorten was:

pol. leuc. 75 $\frac{0}{0}$ en mon. leuc. 25 $\frac{0}{0}$.

Bij nog een ander konijn werd eveneens 50 cc. paraffine ingespoten en 4 uren daarna de verhouding der soorten bepaald; deze was:

pol. leuc. 75 % en mon. leuc. 25 %.

Verder werd het verloop van de emigratie nagegaan op achtereenvolgende dagen. Bij een konijn, dat niet eerder was gebruikt, werd 50 cc. paraffine ingebracht en 4 uren daarna en vervolgens na langere tijden werd een klein gedeelte van het exsudaat afgetapt en de verhouding der leucocyten bepaald na 4 uren:

pol. leuc. 94 % en mon. leuc. 6 %,

na één dag:

pol. leuc. 70 % en mon. leuc. 30 %,

na twee dagen:

pol. leuc. 60 % en mon. leuc. 40 %.

Bij een ander nog niet gebruikt konijn was het verloop aldus: na 4 uren:

pol. leuc. 92.5 % en mon. leuc. 7.5 %,

na 1 dag:

pol. leuc. 85 % en mon. leuc. 15 %,

na 8 dagen:

pol. leuc. 12 % en mon. leuc. 88 %.

Bij een konijn, dat voor één week met paraffine was ingespoten, werd een hoeveelheid leucocyten uit de buikholte verkregen van 1 cc. waarvan:

pol. leuc. 10 % en mon. leuc. 90 %,

het volume is:

pol. leuc. 0.04 cc. en mon. leuc. 0.96 cc.

Evenals bij olieinspuitingen vertoonden de polynucleaire leucocyten ook hier weer teekenen van degeneratie en werden in het exsudaat veel resten van cellen aangetroffen. Bij al

deze proeven hadden ook weer zeer veel mononucleaire leucocyten de ingespoten vloeistof (hier paraffine) en veel polynucleaire leucocyten opgenomen, soms waren ze hiermee tot berstens toe gevuld.

Uit de vergelijkende proeven tusschen oleum olivarum en paraffinum liquidum ziet men, dat deze stoffen precies dezelfde reactie in de buikholte veroorzaken. Zelfs veroorzaken zij in de eerste dagen dezelfde reactie als alle andere stoffen, electrolyten of niet-electrolyten, die in de buikholte worden ingespoten. Alleen bestaat er een verschil in het verder verloop, daarop berustend, dat olie en paraffine niet zoo vlug uit de buikholte worden verwijderd, zooals zoo aanstonds nader zal worden verklaard; na een maand zijn dikwijls nog resten hiervan aanwezig.

Daar oleum olivarum en paraffinum liquidum beide precies dezelfde reactie vertoonen, kunnen we *een specifieke op vet ingestelde chemotaxis uitsluiten als oorzaak van de aanwezigheid der mononucleaire cellen*. Het zou toch ook slecht gaan, hiervoor een paraffinesplitsend ferment aan te nemen op de wijze als BERGEL voor het vet doet. Wij moeten BERGEL's theorie van chemotaxis dus van de hand wijzen; hiermee wordt natuurlijk zijn overige beschouwingswijze o.a. over de beteekenis van het lymphocyttaire celtype voor vetsplitsing enz. niet aangetast.

Mijns inziens kan het optreden van de mononucleaire cellen geheel anders worden verklaard. Het is een bekend feit en mijne onderzoekingen over NaCl 0.9 enz. doen dit ook duidelijk zien, dat in ieder exsudaat, nadat de emigratie der polynucleaire leucocyten is afgelopen, een vermeerdering van mononucleaire cellen optreedt. Dit feit is door vele onderzoekers geconstateerd en wordt toegeschreven aan de eigenschap der mononucleaire leucocyten om de resten van een exsudaat, evenals een ander

corpus alienum op te ruimen. Men ziet de mononucleaire cellen de polynucleaire cellen phagocyteeren en de neerslagen daarvan op den buikwand omwoekeren door granulatieweefsel met veel groote macrophagen. (Zie DE HAAN ¹⁾). Blijft nu een corpus alienum langeren tijd aanwezig, zooals dit het geval is bij olie en paraffineinspuitingen, dan kan zich in de buikholte een groote hoeveelheid mononucleaire leucocyten verzamelen. In het samenvattend overzicht kom ik hierop nog nader terug.

Samenvattend overzicht.

Wanneer wij nu in het kort het resultaat van de inspuiting in de buikholte met zeer verschillende stoffen samenvatten, dan kunnen wij dit niet beter doen, dan door in een overzichtelijke tabel deze resultaten te rangschikken, ontleend aan proeven, onder geheel gelijke omstandigheden genomen.

De proefdieren, alle niet eerder gebruikte konijnen, werden op 2 achtereenvolgende dagen ingespoten met een bepaalde vloeistof en 4 uren na de laatste inspuiting werd het exsudaat afgeheveld en de buikholte nagespoeld. Het resultaat is vermeld in tabel VI.

Een zuiverder beeld krijgt men nog, indien men het resultaat vergelijkt van een enkele inspuiting bij niet gebruikte konijnen voor korter termijnen van inspuiting bijv. na 4 uren en 1½ uur, waarvan het resultaat is vermeld in tabel VII en VIII.

Uit deze tabellen ziet men, dat *de reactie op de inspuiting van allerlei stoffen in de buikholte in groote lijnen altijd dezelfde is*. Terwijl *in den eersten tijd het aantal mononucleaire leucocyten*

¹⁾ I. c. bl. 213.

TABEL VI.

Intraperitoneale injectie met verschillende vloeistoffen op 2 achtereenvolgende dagen met afname van het exsudaat 4 uur na de laatste injectie.

Ingespoten vloeistof.	Totale hoeveelheid leucocyten in cM^3 .	pol. leucocyten in cM^3 .	mononucl. leucocyten in cM^3 .
250 cM^3 stijfseopl. in NaCl 0.9	0.75	0.675	0.075
250 cM^3 . NaCl 0.9 . .	0.25	0.225	0.025
" " " " . .	0.25	0.237	0.013
" " " " . .	0.17	0.153	0.017
" " " " . .	0.40	0.32	0.08
250 cM^3 . glucose 4.15 %	0.30	0.24	0.06
250 cM^3 . rietsuiker 8 %	± 0.30	± 0.24	± 0.06
60 cM^3 . oleum olivarum	0.7	0.63	0.07
50 cM^3 . paraffinum liquidum	0.75	0.63	0.12
250 cM^3 . Ringer's vloeistof	0.25	0.24	0.01
250 cM^3 . ultrafiltraat van runderserum . .	0.5	0.46	0.04
200 cM^3 . ultrafiltraat van runderserum + 50 cM^3 . konijneserum	$\pm 1. -$	0.94	0.06
100 cM^3 . konijneserum	0.75	0.525	0.225

vrijwel gelijk blijft, ontstaat er emigratie van polynucleaire leucocyten, die tevoren in de buikholte niet aanwezig waren. Er is wel eenig verschil in de hoeveelheid polynucleaire leucocyten, die uittreedt, maar verschillende oorzaken kunnen daarvoor

TABEL VII.

Intraperitoneale injectie met verschillende vloeistoffen bij ongebruikte konijnen met afname van het exsudaat 4 uren na de injectie.

Ingespoten vloeistof	Gehalte van het exsudaat aan pol. leucocyten in procenten.	Gehalte van het exsudaat aan mononucl. leucocyten in procenten.
250 cM ³ . NaCl 0.9 % . . .	99.5	0.5
250 cM ³ . NaCl 0.9 % . . .	99.5	0.5
250 cM ³ . glucose 4.15 %.	98	2
250 cM ³ . glucose 4.15 %.	96	4
250 cM ³ . rietsuiker 8 % .	98	2
250 cM ³ . rietsuiker 8 % .	95	5
60 cM ³ . olivarium	$\pm$ 100	$\pm$ 0
60 cM ³ . olivarium	97	3
60 cM ³ . paraff. liquid. . .	75	25
60 cM ³ . paraff. liquid. . .	94	6

TABEL VIII.

Intraperitoneale injectie met verschillende vloeistoffen bij ongebruikte konijnen met afname van het exsudaat 1½ uur na de injectie.

Ingespoten vloeistof.	Gehalte van het exsudaat aan pol. leucocyten in procenten.	Gehalte van het exsudaat aan mononucl. leucocyten in procenten.
250 cM ³ . NaCl 0.9 % . . .	87	13
250 cM ³ . NaCl 0.9 % . . .	90	10
200 cM ³ . Na ₂ HPO ₄ 2 aq. 1.84 %	50	50
200 cM ³ . Na ₂ HPO ₄ 2 aq. 0.92 %, NaCl 0.45 % . .	88	12
250 cM ³ . glucose 4.15 %	66	34
60 cM ³ . oleum olivarium .	90	10

aanwezig zijn. Individueel verschillen de konijnen zeer sterk; terwijl het eene dier overvloedig leucocyten levert, reageert het andere door emigratie van veel kleinere hoeveelheden.

Men heeft bovendien niet altijd de zekerheid, alle leucocyten, die geemigreerd zijn, quantitatief te verkrijgen.

Stoffen, die minder vlug geresorbeerd worden, zullen bij twee opeenvolgende inspuitingen, grootere hoeveelheden kunnen leveren dan zulke, die zeer vlug geresorbeerd worden.

Voor het verhoudingsgetal tusschen polynucleaire en mononucleaire leucocyten is ook van groot belang het van tevoren aanwezige aantal mononucleaire cellen. Meestal is het transudaat, dat afloopt bij buikpunctie glashelder, maar soms is het zoo rijk aan cellen, dat het daardoor troebel is. Dit komt soms voor bij niet gebruikte konijnen, maar vooral bij konijnen, welke reeds vroeger waren ingespoten. *Deze vertoonen als rest van vroegere exsudaatvorming een vermeerdering van mononucleaire leucocyten, welke altijd optreedt als latere reactie bij elke ontsteking.* Hierdoor moet ook verklaard worden de langzame toename der mononucleaire cellen in het latere stadium van de exsudaatvorming. De resten van de ontsteking vormen den groeiprikkel voor de mononucleaire cellen. *Het aantal mononucleaire cellen, dat blijft, zal hoofdzakelijk daarvan afhankelijk zijn, of de ontstekingsresten snel verdwijnen, dan wel langeren tijd aanwezig blijven.* Zoo is het te verklaren, dat wij ten slotte een *grote opeenhooping van mononucleaire cellen eenigen tijd na vetinspuiting verkrijgen.* Toch werkt dit vet niet specifiek chemotactisch op lymphocyten, zooals BERGEL wil, want we vinden dezelfde reactie in gelijke intensiteit bij paraffineinspuitingen en eveneens, wanneer men een ander materiaal zoodanig kiest, dat het geruimen tijd aanwezig blijft. In wezen blijft dit dezelfde reactie als de vermeerdering van mononucleaire cellen

zelfs na een eenvoudige keukenzoutinspuiting, waarvan de resten schijnbaar spoorloos snel verdwijnen.

De vraag kan nu gesteld worden, of deze mononucleaire cellen uit de bloedbaan emigreeren, of veeleer het resultaat zijn van een plaatselijke reactieve vermeerdering. Reeds bij het onderdeel over het resultaat van keukenzoutinspuiting is aangetoond, dat in de eerste uren na de inspuiting de mononucleaire cellen zich niet vermeerderen, wel na langeren tijd. Het is dus zeker, *dat ze in de eerste uren niet uit het bloed naar het exsudaat emigreeren*. Dat ze zoo lang onderweg zouden zijn, dat ze eerst den volgenden dag in het exsudaat zouden aankomen, is ook niet te denken. Veel meer valt er voor te zeggen, dat zij plaatselijk ontstaan. Daarvoor pleiten trouwens ook de kerndeelingsfiguren in het normale transsudaat en in het exsudaat. Hiermede is natuurlijk in het geheel niet gezegd, dat de lymphoide celtype de bloedbaan niet verlaat. We zullen later zien, dat er juist alle aanleiding is, dit wel aan te nemen.

HOOFDSTUK II.

DE HERKOMST VAN DE EXSUDAATCELLEN.

Reeds in het vorige hoofdstuk kwam ik tot de conclusie, dat de mononucleaire cellen, die in het exsudaat gevonden worden, naar alle waarschijnlijkheid niet afkomstig zijn van directe emigratie uit het bloed. Deze emigratie werd als vanzelfsprekend aangenomen voor de polynucleaire elementen.

Het kwam mij gewenscht voor, het gedrag van het bloed tijdens de exsudaatvorming bij inspuiting van de verschillende vloeistoffen, aan een gelijktijdig onderzoek te onderwerpen, om te trachten hierdoor tot een vollediger inzicht te komen omtrent het verband tusschen het optreden van de verschillende celsoorten in het exsudaat en in het bloed.

Voorloopige onderzoeken zijn reeds door mij verricht in samenwerking met DE HAAN¹⁾, en een korte voorloopige samenvatting van de uitkomsten is reeds gepubliceerd. Hetgeen hier volgt is de meer uitvoerige mededeeling over die resultaten, alsook over de verdere voortzetting van het onderzoek door mij.

Bij een zoodanig onderzoek is het van het grootste belang, dat men nauwkeurige gegevens heeft over de relatieve verhoudingen, waarin in het normale konijnebloed de verschillende soorten witte bloedcellen aanwezig zijn. Dit is bij ons

¹⁾ DE HAAN en FERINGA, Koninkl. Akad. van Wetensch. Deel XXVIII, bl. 861 (1920).

proefdier van des te meer gewicht, omdat (in de juist aangehaalde publicatie is hierop reeds gewezen) er een eigenaardige discongruentie bestaat tusschen het normale witte bloedbeeld van het konijn, de reactie daarvan op de inspuiting en de samenstelling van het exsudaat. Om deze reden laat ik hier eerst voorafgaan, wat het onderzoek mij leerde omtrent het normale bloedbeeld van het konijn, om vervolgens aan de hand daarvan de veranderingen van het bloedbeeld na injectie te bespreken met de verdere onderzoekingen, die naar aanleiding van laatstgenoemde noodzakelijk werden.

1. DE WITTE BLOEDLICHAAMPJES IN NORMAAL KONIJNEBLOED.

Methode van telling.

Het konijn leent zich voor een bloedonderzoek uitnemend, omdat de herhaalde afname van bloed zeer gemakkelijk wordt gemaakt door het rijk ontwikkelde venennet op de ooren.

Er werd gebruik gemaakt van de gewone methoden tot tellen van bloedlichaampjes n.l. voor de telling van het totale aantal van de telkamer, en voor de differentiatie, van telkamer en strijkpraeparaten beide.

Alvorens mijn werkwijze in bijzonderheden te beschrijven, komt het mij goed voor de bronnen van fouten, die de bovengenoemde methoden in het algemeen en voor konijnen in het bijzonder aankleven, onder de oogen te zien en de noodige voorzorgsmaatregelen aan te geven.

Wanneer men de literatuur naslaat over bloedtellingen bij het konijn en andere dieren verricht, dan vallen op de uiteenlopende resultaten door verschillende onderzoekers verkregen. Terwijl er bij den mensch niet de geringste moeilijkheid schijnt te bestaan bij de bloedtellingen en alle schrijvers het er over

eens zijn, dat door een prik in vingertop of oorlel door capillaire bloeding steeds bloed wordt verkregen van dezelfde samenstelling als door venepunctie uit de venen en dus van vrijwel dezelfde samenstelling als het geheele bloed, treffen ons zooveel te meer de groote verschillen, die men bij bloedtellingen van dieren aantreft. Vooral bij het konijn zijn de verschillen zeer groot. Terwijl KANTHACK en HARDY¹⁾ aangeven 70 à 80 % lymphocyten en 20 à 30 % polynucleaire leucocyten, vindt LÖWIT²⁾ 35 % lymphocyten en 65 % polynucleaire leucocyten.

Er bestaan slechts twee mogelijkheden ter verklaring van deze groote verschillen:

1. het maken van zeer grove fouten bij de bloedafname en de telling,
2. het onderzoeken van ongelijkwaardige proefdieren.

Wat punt één betreft, kunnen o.a. groote fouten ontstaan door:

a. het werken met een onnauwkeurig telapparaat of het maken van fouten door niet nauwkeurig opvolgen van de gebruiksvoorschriften,

b. het maken van fouten bij de differentiatie in het strijkpraeparaat, hetgeen zeer goed mogelijk is door de onregelmatige verdeeling van de verschillende soorten leucocyten over het praeparaat,

c. heftig verweer van het proefdier, waardoor mechanisch meer leucocyten in het stroomende bloed zouden kunnen komen,

d. irritatie der ooren door vroegere prikwonden, waardoor lichte ontstekingsverschijnselen zouden ontstaan met als gevolg vermeerdering van het aantal polynucleaire leucocyten, of irritatie door chemische middelen, gebruikt om den bloedstroom te versterken,

¹⁾ KANTHACK en HARDY: Journ. of Physiol. vol 17. p. 81. (1894—1895).

²⁾ M. LÖWIT. Fol. haemat. Bnd. 4, bl. 473 (1907).

e. het niet snel genoeg uitstroomen van het bloed, waardoor men zich kan voorstellen dat de samenstelling van het bloed gewijzigd wordt; in den verkregen bloeddruuppel zou bv. meer vocht van den randstroom aanwezig kunnen zijn met meer leucocyten dan bij snel uitvloeien,

f. te langzame of onoordeelkundige bloedafname, waardoor stolling kan optreden, dit kan bv. veroorzaakt worden door het onvoldoende wegscheren der haren bij de prikwond.

Wat punt twee betreft, komen hier in aanmerking:

- a. de leeftijd van het proefdier,
- b. ziekte-toestanden,
- c. de aard van het gebruikte voedsel,
- d. de tijd van bloedafname in verband met de voeding.

In het volgende zal ik aan de hand van eigen ervaringen deze verschillende bronnen van fouten onder het oog zien en ten slotte de gevolgde methode in bijzonderheden mededeelen, welke mij op grond van deze ervaringen het beste voorkwam.

Fouten bij telling in de telkamer.

Wanneer telkamer en mengpipetten zeer nauwkeurig gereinigd worden en men zich aan de voorschriften houdt, is er niet veel kans, dat men bij de telling zelf een grootere dan de normale fout maakt, die te verwaarlozen is.

Opgemerkt dient echter te worden, dat door de oorlogs-industrie telkamers zijn in den handel gebracht, die een fout hebben van ongeveer 30 %. Men is dus genoodzaakt met verschillende telkamers vergelijkende tellingen te doen, alvorens conclusies uit de uitkomsten te trekken.

Dat aan de telling zelf geen fouten kleven, kon ik bewijzen door een contrôleproef, die ik nam met 5 telapparaten van

BÜRKER, waarvan twee oude nauwkeurige en drie nieuwe. De verschillende telkamers gaven bij het tellen van een voldoende aantal hokjes steeds dezelfde onderlinge verschillen, zooals volgt uit tabel IX.

TABEL IX.

Vergelijkende tellingen met 2 oude en 3 nieuwe telapparaten van BÜRKER.
(Als maatstaf van vergelijking is gebezigd het gemiddelde van de 2 oude apparaten).

oud telapparaat I.	oud telapparaat II.	gemiddelde van I en II.	nieuw telapparaat III.	nieuw telapparaat IV.	nieuw telapparaat V.
201 (98.5 ⁰ / ₀)	208 (101.5 ⁰ / ₀)	204.5 (100 ⁰ / ₀)	216 (105 ⁰ / ₀)	268 (132 ⁰ / ₀)	208 (102 ⁰ / ₀)
224 (100 ⁰ / ₀)	225 (100 ⁰ / ₀)	224.5 (100 ⁰ / ₀)	223 (99 ⁰ / ₀)	278 (124 ⁰ / ₀)	215 (96 ⁰ / ₀)
150 (95 ⁰ / ₀)	166 (105 ⁰ / ₀)	158 (100 ⁰ / ₀)	152 (97.5 ⁰ / ₀)	204 (130 ⁰ / ₀)	152 (97.5 ⁰ / ₀)
575 (98 ⁰ / ₀)	599 (102 ⁰ / ₀)	587 (100 ⁰ / ₀)	591 (100.5 ⁰ / ₀)	750 (128 ⁰ / ₀)	575 (98 ⁰ / ₀)

Steeds werd het apparaat van BÜRKER gebruikt, dat voordeelen bezit boven dat van THOMA-ZEISS. Het nadeel van dat van THOMA-ZEISS is, dat wanneer daarbij niet zeer snel wordt gewerkt, door bezinking van de bloedlichaampjes te groote waarden worden gevonden, zooals door BÜRKER¹⁾ en MARLOFF²⁾ is aangetoond.

Moeilijkheden kan verder veroorzaken de verdunningsvloeistof voor de witte bloedlichaampjes, waarvoor ik gebruikte TÜRK's vloeistof ($\frac{1}{3}$ ⁰/₀ ijsazijn in gedestilleerd water met methylviolet voor kernkleuring). Het bleek mij, dat meestal deze

¹⁾ K. BÜRKER, Pflüg. Arch. Bnd 152, bl. 278 (1913).

²⁾ R. MARLOFF, Pflüg. Arch. Bnd 175, bl. 356 (1919).

zuurgraad goed is, maar soms treedt daarbij een hinderlijke agglutinatie van schimmen van roode bloedlichaampjes op, waardoor de witte bloedlichaampjes, die langzamer bezinken, in zeer verschillende vlakken komen te liggen, waardoor een telling zoo niet onmogelijk, toch zeer bezwaarlijk wordt. In deze gevallen moest een andere zuurgraad aan de oplossing van TÜRK worden gegeven. Zoo was de gewone oplossing voor cavia's niet te gebruiken en ook bij uitzondering niet voor een enkel konijn. Bij cavia's werd het euvel meestal voorkomen door een 1 % ijsazijnoplossing te nemen.

Fouten bij de telling van strijkpraeparaten.

Hierbij kunnen zeer groote fouten worden gemaakt. Het bleek mij, dat de verschillende soorten leucocyten over het uitstrijkpraeparaat zeer verschillend waren verdeeld. Terwijl in het midden het lymphocytair type overweegt, zijn de polynucleaire leucocyten voornamelijk aan de randen opgehoopt. Wil men dus nauwkeurige tellingen verrichten, dan moet het geheele praeparaat worden geteld; om die reden is het noodig, dat de te onderzoeken bloeddruppel zonder noemenswaard verlies wordt uitgestreken. Nu is het vrij lastig op een objectglas een strijkpraeparaat te maken, dat aan het begin niet is verdikt; toch is dit onvoorwaardelijk noodig, daar in een verdikt gedeelte een differentiatie niet mogelijk is.

Het uitstrijken van een geheele druppel zonder noemenswaard verlies en zonder te sterke verdikking aan het begin is alleen mogelijk met een kleine druppel. Daar een snel uitstroomende druppel bloed moet worden gebruikt, zooals later aangetoond zal worden, is het moeilijk een kleine druppel op het objectglas te krijgen.

Beter is de methode, twee groote dekglazen zonder druk van elkaar te trekken; wanneer dan de druppel niet te groot genomen is, krijgt men twee praeparaten van de goede dichtheid. Zooals zooeven gezegd, krijgt men slechts goede uitkomsten, wanneer men het geheele praeparaat telt. Dit bleek mij, door de resultaten te vergelijken van tellingen in de telkamer en in het strijkpraeparaat.

Aanvankelijk werd de telkamer alleen gebruikt om het absolute aantal leucocyten te tellen, doch het bleek mij, dat een differentiatie in de telkamer van polynucleaire leucocyten en lymphocyten zeer goed mogelijk was. Het was niet goed mogelijk op die wijze de groote mononucleairen en overgangscellen apart te tellen; deze werden door mij bij de lymphocyten gerekend, hoewel over de afkomst dezer cellen nog zeer veel verschil van meening bestaat, zie bijv. NAEGELI ¹⁾ en BERGEL ²⁾. Zelfs al zouden deze cellen van myeloiden oorsprong zijn, dan zou de fout, die ik beging door ze bij de lymphocyten te rangschikken, wegens het geringe aantal dezer cellen nog zeer klein zijn vooral in vergelijking met de groote schommelingen in het bloedbeeld, die ik door mijn manipulaties verwekte. Hetzelfde geldt voor de eosinophiele cellen, die het aantal der neutrophiele cellen, waarbij ze geteld worden, niet noemenswaard kunnen beïnvloeden.

Wanneer men nu ook bij de strijkpreparaten de overgangscellen en groote mononucleairen bij de lymphocyten telt, dan blijken de uitkomsten der tellingen zeer goed met elkaar overeen te komen. Om deze reden is door mij bij mijn latere proeven de telkamer gebruikt voor het tellen en het differentieeren beide.

¹⁾ NAEGELI. Blutkrankheiten und Blutdiagnostik, 1919.

²⁾ l. c.

Bij 25 konijnen was het gemiddelde resultaat van de beide tellingen bijna gelijkloidend.

Het gemiddelde was bij kamertellingen:

lymphocyten 74.6 ‰, pol. leuc. 25.4 ‰.

bij de strijkpraeparaten:

lymphocyten 71.6 ‰, pol. leuc. 28.4 ‰.

Dat bij de strijkpraeparaten het procentgetal polynucleaire leucocyten iets hooger was dan bij de kamertellingen, moet waarschijnlijk daaraan worden toegeschreven, dat de druppel genomen voor het strijkpraeparaat, iets langzamer is uitgestroomd in verband met het verkrijgen van een kleine druppel.

De bloedafname.

In de *bloedafname* is een groote bron van fouten aanwezig, die slechts met de uiterste omzichtigheid is te vermijden en dan slechts nog in zooverre, dat men over een vrij groot aantal gelijkloidente waarnemingen moet beschikken om conclusies te kunnen trekken uit proeven.

Wanneer men bij volmaakt normale konijnen het witte bloedbeeld gedurende eenige uren nagaat, blijken er bij sommige individuen enorme verschillen tusschen de verschillende resultaten te bestaan, terwijl bij de meeste het bloedbeeld vrijwel constant blijft. Hiervoor zijn verschillende oorzaken aan te voeren, welke reeds boven genoemd zijn.

Door *heftig verzet van het proefdier* is het mogelijk, dat door mechanische oorzaken voornamelijk in het begin, lymphocyten in het bloed geraken, zooals is aangetoond door WAGNER en ROSENTHAL voor spierarbeid, door HESS en SEYDERHELM ¹⁾ voor

¹⁾ HESS en SEYDERHELM, Münch. m. Woch. 1916, bl. 926.

„Schreileucocytose”. Men moet zich voorstellen dat het lymphstelsel sneller ontledigd wordt in het bloed. Eveneens is het mogelijk, door het inspuiten van adrenaline het aantal lymphocyten te laten toenemen. De verklaring wordt dan hoofdzakelijk gezocht in de contractie van den miltkapsel, waardoor meer lymphocyten in den bloedstroom zouden worden gestort. Een bloedafname uit het oor is echter een dusdanig kleine ingreep, dat wij deze factor gerust konden uitschakelen.

Irritatie der ooren is in vele gevallen niet te vermijden. Hieraan moet dan ook voortdurend de aandacht gewijd zijn. De snepper, die gebruikt wordt, moet aseptisch zijn. Het desinfecteeren van het oor zelf is niet noodig en niet wenschelijk. Het desinfecteeren zou andere bezwaren meebrengen, die het resultaat van de telling onnauwkeurig zouden maken zooals b.v. hyperaemie. Als regel toch kon aangenomen worden, dat een ongebruikt konijn niet in korten tijd geïnfecteerd wordt door de reeds op zijn huid voorhanden bacterien.

TABEL X.

Telling van het witte bloedbeeld op verschillende tijden bij hetzelfde konijn.

Tijd van afname.	lymphocyten.	polynucleaire leucocyten.
5 November 11 uur	9000	2400
„ „ 3 $\frac{1}{2}$ uur	8700	2450
6 November 11 uur	9500	2300
„ „ 12 uur	9200	2375
„ „ 2 uur	8600	2425
„ „ 3 uur	8800	2500

Gewoonlijk bedragen bij achtereenvolgende bepaling bij een en hetzelfde konijn de schommelingen tusschen het geheele aantal leucocyten en ook wat betreft de lymphocyten en de polynucleaire leucocyten afzonderlijk, niet meer dan 10 %. Het aantal lymphocyten is het meest constant en vermindert meestal, terwijl in den loop van achtereenvolgende tellingen het aantal polynucleaire leucocyten meer neiging heeft om toe te nemen.

Van een normale telcurve geeft tabel X een voorbeeld.

Soms evenwel is deze geleidelijke wijziging van het bloedbeeld bij achtereenvolgende tellingen veel sterker uitgesproken en neemt vooral het aantal polynucleaire leucocyten snel toe, soms zelfs met meer dan 100 %, zooals in tabel XI is aangegeven.

TABEL XI.

Telling van het witte bloedbeeld op verschillende uren bij hetzelfde konijn.

Tijd van afname.	lymphocyten.	polynucleaire leucocyten.
26 November 10 ¹⁵	7200	2400
10 ⁴⁵	6950	2625
11 ¹⁵	6000	3700
11 ⁴⁵	7600	4075
12 ¹⁵	5900	4450
2	5550	6000

Zulke gevallen als in tabel XI vermeld, moeten m. i. worden toegeschreven aan irritatie der ooren. Deze factor, de irritatie van de ooren, maakt dat men met de conclusies uit de uitkomsten van zijn tellingen zeer voorzichtig moet zijn. *Kleine*

verschillen bestaan normaal en kunnen niet gebruikt worden voor het trekken van conclusies, omdat ze binnen de foutengrens der methode vallen; alleen de grovere verschillen en dan ook nog alleen, wanneer deze bij herhaling, regelmatig onder dezelfde omstandigheden worden gevonden, hebben waarde.

Zeer voorzichtig vooral moet men zijn als de bloedvoorziening van het oor slecht is, omdat dan kans bestaat, vooral weer bij geirriteerde ooren, voor groote vergissingen. Wanneer een oor geirriteerd is en er lichte ontstekingsverschijnselen zijn opgetreden, zullen meer leucocyten in het bloed worden vastgehouden, immers de leucocyten stroomen naar de plaats van ontsteking. Wanneer men nu dergelijke vaten aanprijkt, terwijl de bloedstroom langzaam is, het bloed dus weinig ververscht wordt, zal het noodwendige gevolg zijn een verhoogd aantal leucocyten in den bloeddruuppel, die dan slechts het beeld geeft van het locale bloed. Stroomt het bloed vlugger, dan is de verversching beter door den aanvoer van nieuw normaal bloed. De irritatie zal dus in den uitstroomenden druppel minder effect hebben.

Er is evenwel nog een reden, waarom een druppel voor bloedonderzoek vlug moet uitstroomen. Volgens de wet van POISSEUILLE volgens welke de zwaarste deeltjes zich in den asstroom bewegen en de lichtste naar den kant worden gedrongen, moeten de roode bloedlichaampjes, die het zwaarst zijn, zich in den asstroom bewegen, terwijl de witte bloedlichaampjes, die specifiek lichter zijn, meer in den randstroom zullen voorkomen. Het is trouwens ook bekend, dat de witte bloedlichaampjes over den vaatwand rollen, zich dus veel langzamer verplaatsen dan de deeltjes in de as van het vat. Wordt nu een klein vat aangeprikt of wordt slechts een kleine opening gemaakt, dan is er in het eerste geval kans, dat er

meer leucocyten zullen uittreden, doordat het gedeelte randstroom grooter is in een klein dan in een groot vat, terwijl ook bij een kleine wond in een groot vat, meer van het randgedeelte zal uittreden door capillaire werking. Uit tabel XII ziet men den invloed van de snelheid van uittreden van een druppel, waar afwisselend een snel uittredende en een langzaam uittredende druppel werden onderzocht. Daarom is het ook noodzakelijk, om den eersten druppel niet te gebruiken; behalve de mogelijkheid van aanwezigheid van weefselvocht, bestaat hier ook gevaar, dat de witte bloedlichaampjes hierin te sterk vertegenwoordigd zullen zijn.

TABEL XII.

De invloed van de snelheid van uitstrooming van het bloed op het resultaat der telling van het witte bloedbeeld.

Tijd en snelheid van uitstrooming van den druppel.	Aantal lymphocyten per mM^3 .	Aantal polynucleaire leucocyten per mM^3 .
10^{30} snel uitvloeiende druppel	6000	2000
10^{45} zeer langzaam uitvloeiende druppel	11200	4150
11 vrij vlug uitstroomende druppel	6350	2225
11^{30} langzaam uitstroomende druppel	8400	2500

Het behoeft geen betoog, dat zoo vlug gewerkt moet worden, dat *stolling* wordt vermeden. Daardoor toch zouden de leucocyten zich grootendeels in het stolsel bevinden, waardoor veel te lage waarden voor het aantal leucocyten zouden worden gevonden. Bij eenige geoefendheid is niet te verwachten, dat men last heeft met de stolling, ofschoon er groote verschillen

in stolbaarheid bestaan. Het spreekt van zelf, dat een vlug uitstroomende druppel minder aan stolling onderhevig is, daar deze minder met het weefsel in aanraking komt.

De leeftijdsfactor in verband met het bloedbeeld.

Waar bij den mensch gedurende het leven het bloedbeeld zich voortdurend meer wijzigt ten gunste van de polynucleaire leucocyten ten koste van de lymphocyten (zie WEIDENREICH ¹⁾), behoeft het ons niet te verwonderen, dat bij het konijn zich dezelfde verhoudingen zouden kunnen voordoen, zooals ik trouwens ook bij mijn eigen proefnemingen kon constateeren. Daarvoor onderzocht ik dieren van verschillende leeftijden.

Bij een vijftal konijnen van $\frac{1}{2}$ jaar oud was het gemiddelde totale aantal leucocyten: 7649, hiervan:

lymph. 5695 of 74.5 % en pol. leuc. 1954 of 25.5 %.

Bij een achttiental van denzelfden leeftijd het totale aantal leucocyten 7715 waarvan:

lymph. 5690 of 73 % en pol. leuc. 2015 of 27 %.

Bij oudere dieren was de verhouding vrij sterk gewijzigd. Daarvoor onderzocht ik twee seriën van 5 konijnen van $1\frac{1}{2}$ tot 3 jaar oud:

1^e serie, totale aantal leucocyten 9430, waarvan:

lymph. 6080, 65 % en pol. leuc. 3350, 35 %.

2^e serie, totale aantal leucocyten 10596, waarvan:

lymph. 6480, 61 % en pol. leuc. 4116, 39 %.

Toen ik verschillende jongere konijnen met groote tusschenpoozen onderzocht, bleek mij, dat het bloedbeeld geleidelijk verandert. Het totale aantal witte bloedlichaampjes neemt steeds

¹⁾ F. WEIDENREICH, Die Leucocyten und verwandte Zellformen, bl. 124. Wiesbaden 1911.

toe, terwijl over het algemeen het procentgetal polynucleaire leucocyten vlugger toeneemt dan dat der lymphocyten.

Een 18tal konijnen van $\frac{1}{2}$ jaar oud, dat op 16 November het volgende bloedbeeld had: totale aantal leuc. 7715, waarvan:

lymph. 5690, 73 % en pol. leuc. 2015, 27 %,

had op 8 Januari daaropvolgend: totale aantal leuc. 10488, waarvan:

lymph. 7435, 71 % en pol. leuc. 2995, 29 %.

Dat evenwel de verandering van het bloedbeeld met den leeftijd niet heelemaal geleidelijk is, blijkt uit een onderzoek naar het verloop van het bloedbeeld bij nog jongere konijnen van kort na de geboorte tot ongeveer $\frac{1}{2}$ jaar oud. Aanvankelijk bleek het aantal lymphocyten overwegend. Gedurende den laatsten tijd van het zoogen en vooral vlak na het spenen traden groote schommelingen op zoo zelfs, dat vaak de polynucleaire leucocyten sterker in aantal waren. Daarna trad weer de normale toestand op, dat de lymphocyten overwogen.

Bij een 5 tal konijnen van 2 weken was het verloop als in tabel XIII is aangegeven.

TABEL XIII.

Verloop van het gemiddelde witte bloedbeeld van een 5-tal konijnen van 2 weken tot 26 weken.

Ouderdom per proefdieren.	Gemiddeld totaal aantal witte bloedlich. van een 5-tal proefdieren per mM^3 .	Gemiddeld aantal lymphocyten van een 5-tal proefdieren per mM^3 .	Gemiddeld aantal pol. leucocyten van een 5-tal proefdieren per mM^3 .
2 weken	3160	2396	764
4 "	4092	2475	1617
9 "	6162	3032	3130
14 "	6890	3620	3270
26 "	13900	8735	5165

Een 5 tal, dat juist gespeend was, gaf een beeld als in tabel XIV.

TABEL XIV.

Verloop van het gemiddelde witte bloedbeeld bij een 5-tal konijnen, dat juist gespeend was.

Ouderdom der proef- dieren.	Aantal witte bloedlich. per mM^3 .	Aantal lympho- cyten per mM^3 .	Aantal polynucl. leuc. per mM^3 .
9 weken	4736	2800	1936
12 "	5640	3190	2450
16 "	7980	4830	3150
21 "	8320	5115	3250
32 "	10670	6590	4080

Een 5 tal konijnen, dat bij het begin van de proef nog niet gespeend was, zooals in tabel XV.

TABEL XV.

Verloop van het gemiddelde witte bloedbeeld bij een 5-tal konijnen, dat na de eerste telling gespeend werd.

Ouderdom der proef- dieren.	Aantal witte bloedlich. per mM^3 .	Aantal lympho- cyten per mM^3 .	Aantal polynucl. leuc. per mM^3 .
8 weken	6031	3512	2519
11 "	6312	4625	1687
15 "	7656	5125	2531
20 "	9077	5837	3240
31 "	10500	7300	3200

Bij het beschouwen van deze tabellen moet niet uit het oog worden verloren, dat deze jonge konijnen sterk met haver werden

gevoed; zooals spoedig zal blijken, wordt daardoor het aantal leucocyten hooger dan van andere konijnen van dien leeftijd. Het bleek mij namelijk, dat in den tijd dat de konijnen met haver werden gevoed, bij alle een hooger aantal polynucleaire leucocyten werd geconstateerd dan bij konijnen, die alleen met gras of bieten werden gevoed. Zoo is het ook te verklaren, dat het aantal polynucleaire leucocyten hier aanmerkelijk hooger is dan bij de konijnen van de eerste series. De cijfers van deze laatste zijn ook alleen maar onderling vergelijkbaar, omdat ze betrekking hadden op konijnen, die afgezien van den leeftijd onder dezelfde omstandigheden verkeerden van voeding enz.

Toch blijkt uit deze tabellen, dat *vanaf de geboorte het geheele aantal leucocyten voortdurend toeneemt en dat deze stijging zoowel de polynucleaire leucocyten als de lymphocyten omvat.*

Ziektetoestanden.

Ofschoon ik geen dieren pathologisch-anatomisch onderzocht heb, zou ik zeer goed mee kunnen gaan met JÖRGENSEN¹⁾, die vond, dat wanneer het bloedbeeld niet lymphocytair was, er ziekelijke afwijkingen moesten bestaan, welke zooals vanzelf spreekt, van grooten invloed kunnen zijn op het bloedbeeld. Ik volsta met alleen te wijzen op de mogelijkheid, dat chronische etteringsprocessen zooals die bij konijnen nu en dan voorkomen o.a. aan de ooren, hiervan de oorzaak kunnen zijn.

De aard van het gebruikte voedsel.

Toen ik serien konijnen onderzocht van gelijken leeftijd, des winters en des zomers, viel het mij op, dat het bloedbeeld

¹⁾ JÖRGENSEN, Skand. arch. f. Physiol. Bnd. 33 bl. 239 en 253 (1916).

aanmerkelijk verschilde. Hoewel er andere omstandigheden mede van invloed konden zijn, was er alle aanleiding om de oorzaak in de eerste plaats te zoeken in de voeding, welke des winters en des zomers zeer verschillend is. Het groote verschil in de voeding bestond in het des winters verstrekken van haver, een voedsel rijk aan vetachtige stoffen, die o.a. ook een grooten invloed uitoefenen op de vorming van roode bloedlichaampjes. De sterke werking van haver op de nieuwvorming van bloed-elementen in het beenmerg blijkt uit de proeven van BRINKMAN en VAN DAM ¹⁾ en van HAMBURGER ²⁾. Het is dus zeer aannemelijk, dat dezelfde werking, die aanwezig is bij den aanmaak van roode bloedlichaampjes, ook zijn werking zal doen gevoelen op dat deel van het bloedvormend weefsel, dat telkens nieuwe witte bloedcellen vormt. Het was reeds door den oorlog gebleken, dat de menschen door een hongerdieet een meer lymphocytair bloedbeeld kregen (zie o.a. BOBELMANN en NASSAU ³⁾).

Door de proeven van ASHER ⁴⁾ over wijzigingen in het bloedbeeld door toediening van o.a. thyreoidpraeparaten is eveneens bewezen, dat langdurige veranderingen in het bloedbeeld zeer goed zijn tot stand te brengen.

Om zekerheid te verkrijgen over den invloed van havervoeeding op het witte bloedbeeld, werd aan twee konijnen, die tevoren slechts weinig haver kregen, een dieet verstrekt met volop haver. Uit het verloop van de bloedcurve ziet men, dat

¹⁾ BRINKMAN en VAN DAM, *Biochem. Zeitschr.*, Bnd 108, H. 1/3, bl. 35, 52, 62 (1920).

²⁾ H. J. HAMBURGER, *Arch. int. d. Physiol. (Livre jubilaire du prof. LEON FRÉDÉRICQ)* (1921).

³⁾ BOBELMANN en NASSAU, *Berl. kl. Woch.* 55. 353 (1918).

⁴⁾ ASHER en DUBOIS, *Biochem. Zeitschr.*, Bnd 83, bl. 141 (1917).

ASHER en MESSERLI, *Biochem. Zeitschr.*, Bnd 97, bl. 40 (1919).

het aantal polynucleaire leucocyten snel stijgt. (zie tabel XVI). Bij konijn 6 wordt zelfs het bloedbeeld omgekeerd; bij konijn 7 is de verandering minder frappant, maar treedt toch een duidelijke vermeerdering der polynucleaire leucocyten op. Wordt de haver aan het dieet onttrokken en in plaats daarvan bieten gegeven, dan vermindert het aantal polynucleaire cellen snel en daalt tot beneden het uitgangspunt. De lymphocyten worden minder beïnvloed.

TABEL XVI.

Verloop van het witte bloedbeeld bij sterke havervoeding en bij onthouding daarvan.

Datum.	Konijn 6.		Konijn 7.		Opmerkingen.
	Aantal lymphoc. per mM ³ .	Aantal pol. leuc. per mM ³ .	Aantal lymphoc. per mM ³ .	Aantal pol. leuc. per mM ³ .	
13 October . .	4650	2350	8325	2700	Vanaf hier sterke havervoeding en geen bieten.
14 October . .	—	—	—	—	
20 October . .	5500	2875	7500	2200	
27 October . .	4450	3700	5500	2250	
2 November .	4400	5175	7300	3650	
9 November .	7425	7200	7150	3850	Vanaf hier geen haver meer.
16 November .	—	—	—	—	
25 November .	3375	1025	6650	1950	
1 December .	6400	1650	9350	2250	
9 December .	4550	2725	7750	1850	

Voor controle werd aan twee andere konijnen 8 en 10 een dieet gegeven zonder haver. Terwijl evenals bij de vorige proef de lymphocyten hierop minder reageerden, werd een vermindering van het aantal polynucleaire leucocyten geconstateerd. Werd daarna overvloedig haver gevoerd, dan trad eerst een

sterke vermeerdering op van hoofdzakelijk lymphocyten gevolgd door een aanzienlijke vermeerdering der polynucleaire cellen. Het resultaat is vermeld in tabel XVII.

TABEL XVII.

Verloop van het witte bloedbeeld bij onthouding van haver en daarna bij sterke voeding met haver.

Datum.	Konijn 8.		Konijn 10.		Opmerkingen.
	Aantal lymphoc. per mM ³ .	Aantal pol. leuc. per mM ³ .	Aantal lymphoc. per mM ³ .	Aantal pol. leuc. per mM ³ .	
13 October . .	5875	2725	5875	2700	Vanaf 14 Oct. geen haver meer.
14 October . .	—	—	—	—	
20 October . .	5675	2500	5275	2475	
28 October . .	6350	2150	4150	1725	
2 November .	5900	1750	4775	1500	Vanaf hier sterke havervoeding.
9 November .	5625	1975	7800	2500	
16 November .	—	—	—	—	
25 November .	10150	2675	8600	2425	
1 December .	6250	2125	4700	4075	
9 December .	7725	2775	8300	4125	

Uit deze beide proeven blijkt overtuigend, dat het bloedbeeld in korten tijd sterk verandert door het toedienen van haver. Bij enkele exemplaren wordt zelfs het geheele bloedbeeld omgekeerd.

De tijd van afname in verband met den tijd van voedselopname.

In verband met het vraagstuk van de alimentaire leucocytose, moest ik rekening houden met de mogelijkheid, dat op het hoogtepunt der spijsvertering het normale witte bloedbeeld

een aanmerkelijke verandering zou kunnen ondergaan. In dit geval zouden de boven genoemde uiteenlopende literatuur-opgaven over het konijnebloedbeeld gereedelijk daardoor verklaard kunnen worden, dat de tijd van bloedafname niet steeds in hetzelfde stadium van de spijsvertering plaats vond.

Bekend zijn de proeven van LASSABLIÈRE en RICHET¹⁾ en van MARLOFF²⁾ over alimentaire leucocytose bij dieren. Terwijl bij den mensch een duidelijke digestieleucocytose bestaat, is daarvan bij het konijn onder normale omstandigheden zoo goed als niets te bemerken. De reden hiervan is waarschijnlijk, dat het steeds gevulde darmkanaal een evenwichtstoestand in het leven roept. Wanneer men echter belangrijk van de normale omstandigheden afwijkt en het proefdier, na het geruimen tijd te hebben laten vasten voedt, of wel ineens groote hoeveelheden

TABEL XVIII.

Verloop van het witte bloedbeeld bij een konijn, dat vanaf
4 October 3 n.m. vast.

Datum.	Uur van onder- zoek.	Aantal lymhocyten per mM ³ .	Aantal polynucleaire leucocyten per mM ³ .
4 October	3 uur	6475	1175
5 October	9 ³⁰	6050	825
" "	3 ³⁰	6525	650
" "	4 ³⁰	5975	1725
6 October	10 ⁴⁵	6775	1875

¹⁾ LASSABLIÈRE en RICHET: Archiv. intern. d. Physiol. XII, 2, p. 213 (1913).

²⁾ MARLOFF: Pflüg. Archiv. Bnd 175, bl. 355 (1919).

abnormaal voedsel in de maag brengt, vindt men even goed belangrijke schommelingen in het witte bloedbeeld.

Hoewel het bloedbeeld bij vasten zeer onregelmatig was, werd zeer vaak na ongeveer één dag een matige hypoleucocytose geconstateerd, meestal gevolgd door een matige hyperleucocytose. Als voorbeeld geef ik tabel XVIII.

Wanneer men daarna het proefdier zichzelf laat voeden, vindt men den volgende dag een zeer duidelijke leucocytose. Als voorbeeld tabel XIX.

TABEL XIX.

Verloop van het witte bloedbeeld bij een konijn, dat na 2 dagen vasten wordt gevoederd.

Datum.	Uur van onder- zoek.	Aantal lympho- cyten per mM ³ .	Aantal polynu- cleaire leucocyten per mM ³ .	Opmerkingen.
18 October	9 ⁴⁵	5325	1525	Begin van het vasten.
20 "	2 ⁴⁵	2850	1450	Begin van de voeding.
21 "	10 ³⁰	5300	6450	

Brengt men bij een normaal proefdier of een dat vast, vreemde stoffen in de maag als bijvoorbeeld NaCl 0.9 % of oleum olivarum, dan ziet men eerst een matige hypoleucocytose optreden, gevolgd door een hyperleucocytose. Als voorbeeld tabel XX voor een vastend konijn, waar keukenzoutoplossing in de maag gebracht werd en het volgende voorbeeld in tabel XXI, waar bij een konijn, dat vast vanaf 4 October 12 uur, op 5 October 50 gram oleum olivarum in de maag wordt gebracht.

TABEL XX.

Verloop van het witte bloedbeeld bij een konijn, dat sinds 3 dagen vast en waarbij dan 200 cM³. NaCl 0.9 in de maag wordt gebracht.

Datum.	Uur van onderzoek.	Aantal lymphocyten per mM ³ .	Aantal polynucleaire leucocyten per mM ³ .	Opmerkingen.
4 October	9	—	—	Begin van het vasten.
7 "	9 ⁴⁵	7075	1600	200 cM ³ . NaCl 0.9 in de maag gebracht.
" "	10	—	—	
" "	10 ³⁰	6325	1225	
" "	2	6100	1400	
8 October	9 ³⁰	5825	1575	200 cM ³ . NaCl 0.9 in de maag gebracht.
" "	10	—	—	
" "	10 ³⁰	4925	1150	
" "	2 ³⁰	5300	2650	

TABEL XXI.

Verloop van het witte bloedbeeld bij een sinds één dag vastend konijn, waarbij 50 cM³. oleum olivarum in de maag wordt gebracht.

Datum.	Uur van onderzoek.	Aantal leucocyten per mM ³ .	Aantal polynucleaire leucocyten per mM ³ .	Opmerkingen.
4 October	3	4200	1850	vast vanaf 12 uur.
5 October	9 ³⁰	5800	2125	
" "	10 ³⁰	—	—	50 cM ³ oleum olivarum in de maag gebracht.
" "	11 ³⁰	2625	1150	
" "	3	3975	7100	

Zooals uit deze tabellen blijkt, *bestaat er wel degelijk verband tusschen het witte bloedbeeld en de voedselopname*. Er blijkt een *leucopenie* te bestaan na inbrengen van voedsel, gevolgd door een *leucocytose*. Deze werking is verreweg het sterkst uitgesproken bij vettoediening, bij keukenzoutoplossing flauwer aangeduid. *Bij dieren evenwel als het konijn met een steeds gevulde maag en darm, is het zonder het dier te laten vasten, onmogelijk, een digestieleucocytose te constateeren*. In plaats van herbivoren te gebruiken, zou het beter zijn hiervoor carnivoren te nemen.

Om te onderzoeken, of in normale omstandigheden ook schommelingen in het bloedbeeld van het konijn voorkwamen, werd een serie van 5 konijnen onderzocht op 5 achtereenvolgende dagen; elk daarvan eens per dag op 5 bepaalde uren, met dien verstande, dat de konijnen volgens rooster op verschillende dagen op verspringend uur werden onderzocht. Om irritatie der ooren te voorkomen, werd om den anderen dag het linker of het rechter oor gebruikt voor bloedonderzoek. De konijnen werden verder op denzelfden tijd gevoed des morgens en des middags. Het verloop van het bloedbeeld dezer konijnen is overzichtelijk gemaakt in tabel XXII.

Uit deze tabel kan men lezen, dat terwijl bij enkele afzonderlijke individuen vrij groote schommelingen voorkomen, zoowel in het aantal lymphocyten, als in het aantal polynucleaire leucocyten, er toch geen sprake van is, dat de voeding een bepaalden invloed heeft op de dagcurve van het aantal witte bloedcellen. Zoo schommelt het gemiddelde van het aantal lymphocyten op verschillende uren van den dag van 8035 tot 8930, terwijl het gemiddelde van het aantal polynucleaire leucocyten schommelt van 2680 tot 2920.

Anders is het met het gemiddelde van het aantal leucocyten op achtereenvolgende dagen; hier valt een gestadige toename

TABEL XXII.

Onderzoek naar het verloop van het gemiddelde bloedbeeld van vijf konijnen op verschillende uren van den dag en op vijf achtereenvolgende dagen.

	16 December L. oor. Lymph. Pol. I.	17 December. R. oor. Lymph. Pol. I.	18 December. L. oor. Lymph. Pol. I.	19 December. R. oor. Lymph. Pol. I.	20 December. L. oor. Lymph. Pol. I.	gemidd. hoeveel- heid op versch. uren v. den dag. Totaal hoeveelh.
lymph. 9 $\frac{1}{2}$ uur pol. I.	9400 konijn I 1900	8250 V 3125	7600 IV 2050	7475 III 2575	10000 II 3750	42725 8525
lymph. 10 $\frac{1}{2}$ uur pol. I.	8500 II 3050	9400 I 2150	7750 V 3225	8650 IV 2250	6875 III 2775	13400 2680 41175 8035
lymph. 11 $\frac{1}{2}$ uur pol. I.	6800 III 2725	7700 II 3000	10900 I 2650	7775 V 2725	10425 IV 2750	13450 2690 43600 8720
lymph. 2 $\frac{1}{2}$ uur pol. I.	6750 IV 1400	8425 III 3075	9875 II 2800	12000 I 3050	7600 V 3650	13850 2770 44650 8930 13975 2795
lymph. 3 $\frac{1}{2}$ uur pol. I.	8500 V 3025	7850 IV 1825	6600 III 2725	9150 II 3800	11550 I 3225	43650 8730 14600 2920
totaal hoeveel- gemiddelde hoe- veelheid op achter- eenv. dagen.	39950 12100 7990 2420	41625 13175 8325 2635	42725 13450 8345 2690	45050 14400 9010 2880	46450 16150 9290 3230	

¹⁾ Konijn II had den vorigen dag een sterke bloeding uit het oor gehad waardoor het aantal roode bloedcellen tot 3.5 millioen was gedaald.

te constateeren, zoowel van lymphocyten als van polynucleaire leucocyten. Het aantal lymphocyten komt van 7990 over 8325, 8345 en 9010 op 9290, terwijl het aantal polynucleaire leucocyten van 2420 over 2635, 2690 en 2880 op 3230 komt.

Een andere oorzaak dan irritatie der ooren is hiervoor niet aan te wijzen. Men moet dus zeer voorzichtig zijn met het trekken van conclusies uit de resultaten van bloedtellingen; zelfs een prikkel als het afnemen van bloed om den anderen dag is voldoende om een matige hyperleucocytose te geven. Ook wanneer men dus alle mogelijke voorzorgen in acht neemt, zal men bij het constateeren van een hyperleucocytose, deze slechts met zekere reserve kunnen gebruiken, terwijl een hypo-leucocytose meer te vertrouwen is.

Uit de bronnen van fouten kortelijks door mij besproken, blijkt, dat er alleszins reden is tot voorzichtigheid bij het beoordeelen van de resultaten, die men bij het onderzoek verkrijgt. Bijna alle fouten die gemaakt worden, zullen een te hooge waarde aangeven voor de leucocyten en in het bijzonder voor de polynucleaire leucocyten. Slechts bij de stolling kan men te lage waarden verkrijgen.

Omdat men nooit zekerheid kan hebben, of niet door een of andere oorzaak het resultaat is vertroebeld, moet men altijd meerdere onderzoekingen doen en slechts, wanneer een groote serie steeds dezelfde uitkomsten geeft, kan men met zekerheid conclusies trekken uit de uitkomsten.

Uit de bloedonderzoekingen is tevens gebleken, dat kleine veranderingen in het bloedbeeld niets kunnen bewijzen over bepaalde invloeden; een verandering van b.v. 10 % valt onder de physiologische schommelingen.

Aanvankelijk werden door mij altijd procentgetallen van de

verschillende soorten leucocyten vermeld. Het is veel beter, de absolute getallen te vermelden; immers sterke wijzigingen in het bloedbeeld zullen altijd in het absolute aantal tot uiting komen, terwijl het procentgetal der soorten niet in den zelfden zin behoeft te worden gewijzigd. Wanneer onder zekeren invloed het aantal leucocyten daalt van 10.000 tot 2.000, dan is dit het belangrijke; toch is het zeer goed mogelijk, dat in beide gevallen de relatieve procentgetallen der soorten weinig veranderd zijn.

Wat nu betreft het normale bloedbeeld van het konijn, uit de reeds vermelde cijfers volgt, dat ik over het algemeen de resultaten van JÖRGENSEN ¹⁾ heb kunnen bevestigen. Het bloedbeeld van het volwassen konijn is overwegend lymphocytair; 70 à 80 % lymphocyten en 20 à 30 % polynucleaire leucocyten. Op een honderdtal volwassen konijnen vond ik slechts tweemaal meer polynucleaire leucocyten dan lymphocyten. Één van deze, waarop thyreodectomie was gedaan, had een sterke trachea-vernauwing als bewijs waarvan het een enorme stridor vertoonde; het andere was oogenschijnlijk gezond. Pathologisch-anatomisch werden deze konijnen niet onderzocht.

Conclusies.

1. Het bloedbeeld van het konijn is overwegend lymphocytair.
2. Bij doelmatig gebruik worden door tellen in de telkamer van BÜRGER slechts te verwaarloozen fouten gemaakt.
3. Om conclusies te trekken uit strijkpraeparaten, moet men het geheele praeparaat tellen en in dit praeparaat den geheelen druppel opgenomen hebben.

¹⁾ l. c.

4. In de bloedafname schuilt de grootste bron van fouten voor de bloedtelling namelijk:

- a. heftig verweer van het proefdier,
- b. irritatie van het oor, waardoor lichte ontstekingsverschijnselen optreden,

c. het niet vlug uitstroomen van den te onderzoeken druppel.

5. De leeftijd heeft invloed op het bloedbeeld van het proefdier.

6. Wanneer men konijnen onder normale omstandigheden onderzoekt, behoeft men geen rekening te houden met een voedingsleucocytose.

7. Ziekten kunnen het bloedbeeld geheel veranderen, ook het polynucleaire beeld naar voren brengen.

8. De aard van het gebruikte voedsel oefent grooten invloed uit op het bloedbeeld.

9. De tijd van afname heeft onder normale omstandigheden geen invloed op het bloedbeeld van het konijn.

10. Hoogere leucocytenwaarden moeten altijd met meer wantrouwen worden behandeld dan lage, daar door allerlei fouten altijd te hoge waarden worden geconstateerd behalve bij stolling van het bloed.

11. Bij de bestudeering van invloeden, die het bloedbeeld zouden kunnen wijzigen, moet men herhaaldelijk overeenkomstige resultaten verkrijgen, alvorens men hieruit conclusies kan trekken.

2. DE VERANDERINGEN VAN HET BLOEDBEELD NA HET INSPUITEN VAN VOCHT IN DE BUIKHOLTE.

Een infectie gaat meestal gepaard met hyperleucocytose. Toen men dit feit nauwkeuriger ging onderzoeken, bleek dat altijd

hieraan vooraf was gegaan een hypoleucocytose. Het ligt ook in den aard der zaak, als men emigratie van leucocyten aanneemt, dat door een prikkel, die emigratie veroorzaakt, eerst leucocyten aan het bloed onttrokken zullen worden. De daarop volgende hyperleucocytose wordt verklaard door overcompensatie van het geleden verlies.

Voorloopig kan in het midden worden gelaten door welke oorzaken de bloedbereidende organen aangezet worden tot een zoo sterk vermeerderde uitscheiding van witte bloedelementen.

Zeër uitvoerige onderzoekingen zijn gedaan over de waarde, die te hechten is aan het witte bloedbeeld bij verschillende ziekten. Niet te ontkennen valt, dat aan het bloedonderzoek een reeks van waardevolle gegevens is ontleend voor de diagnostiek en het verloop van allerlei ziekten, ofschoon men niet kan verwachten uit een druppel bloed alle ziekten te kunnen diagnosticeeren.

Vele onderzoekingen zijn gedaan over leucocytose, over de normale schommelingen in het bloedbeeld bij voeding, honger etc. (zie boven), over de leucocytose bij verschillende ziekten en speciaal over de vermeerdering van bepaalde soorten witte bloedlichaampjes, vooral met het oog op de diagnostiek. Ik wil slechts wijzen op de sterke leucocytose van neutrophiele leucocyten, die bij de meeste acute infectieziekten bestaat; verder op de eosinophilie, die voorkomt bij asthma, trichinose etc.

Zooals reeds eerder uiteengezet, was mijn doel bij het wekken van steriele exsudaten, naast elkaar het exsudaat en het bloedbeeld na te gaan, om een beter inzicht te verkrijgen in de emigratie der leucocyten. Hierover zijn reeds veel onderzoekingen gedaan, door het veneus, subcutaan en intrasereus inspuiten van allerlei stoffen. Merkwaardig is evenwel, dat bijna

nooit gedifferentieerd wordt tusschen myeloide elementen eenerzijds en lymphoide anderzijds, en wordt dit nog gedaan, zooals door WERIGO en JEGUNOW ¹⁾, dan wordt slechts acht gegeven op de polynucleaire leucocyten, terwijl toch zooals we zullen zien, bij de lymphocyten minstens even groote veranderingen plaats vinden.

Vele publicaties zijn van weinig waarde, omdat voortdurend over leucocyten wordt gesproken, terwijl de lezer niet kan weten wat bedoeld wordt, of alle witte bloedlichaampjes te zamen of alleen de polynucleaire leucocyten.

Een andere fout wordt meestal begaan door alleen verhoudingsgetallen van polynucleaire leucocyten en lymphocyten te vermelden zonder het totale aantal. Veel rationeeler is het, slechts de totaalaantallen van de hoofdsoorten met elkaar te vergelijken, wat dan ook steeds door mij is gedaan.

Uit hoofdstuk I blijkt, dat de buikholte van een normaal konijn slechts mononucleaire leucocyten bevat, die slechts verschillen door hun grootte. Uit hoofdstuk I blijkt verder, dat door inspuiting van allerlei stoffen in de buikholte een exsudaat ontstaat, waarin rijkelijk emigratie van polynucleaire leucocyten optreedt. In de eerste uren vermeederen de mononucleaire cellen in het exsudaat niet, blijft de hoeveelheid constant, zooals in hoofdstuk I is beschreven.

Bij de verschillende stoffen, die gebruikt werden om emigratie van leucocyten te verkrijgen, werd nu eveneens het bloedbeeld nagegaan op verschillende tijdpunten na de inspuitingen. Er werd rekening gehouden met de bezwaren, die zich bij de bloedtelling voordoen, zooals die zooeven zijn beschreven. Het grootste bezwaar was wel, dat het dikwijls moeilijk was een

¹⁾ WERIGO en JEGUNOW, Pflug. Arch. LXXXIV, 7/10, bl. 451 (1901).

voldoende bloeding te verkrijgen. Zooals we gezien hebben, school daarin juist de grootste bron van fouten. Er zijn dan ook slechts conclusies getrokken, wanneer een groot aantal proeven steeds weer dezelfde uitkomst gaf.

Verder was het gevaar lang niet denkbeeldig, dat door het inspuiten van groote hoeveelheden vocht in de buikholte, een duidelijke hydraemie zou ontstaan, die het resultaat der telling zou vertroebelen (zie FERINGA en v. CREVELD ¹⁾). Om den invloed hiervan na te gaan, werd in een groot aantal gevallen tevens het aantal roode bloedlichaampjes geteld. Hieruit bleek, dat deze hydraemie, mocht deze bestaan, geen invloed van eenige betekenis uitoefende. De grootste vermindering, die het aantal roode bloedlichaampjes onderging, was 6 procent. Tegenover de groote schommelingen, die door de inspuitingen in het witte bloedbeeld werden verwekt, zinken deze in het niet.

Het bloedbeeld na inspuiting van waterige vloeistoffen.

Het resultaat voor de verschillende vloeistoffen blijkt uit de tabellen, die als voorbeeld gekozen zijn uit een groot aantal proeven. Het eerst volgt tabel XXIII, waar als injectievloeistof NaCl 0.9 % is gebruikt.

Uit het verloop van het bloedbeeld ziet men, dat na de inspuiting eerst altijd het aantal polynucleaire leucocyten snel sterk vermindert, om na verloop van eenige uren wederom langzaam te stijgen. Den volgenden dag bestaat dan een sterke leucocytose van deze cellen. Op een herhaalde inspuiting vertoont zich weer hetzelfde beeld.

¹⁾ FERINGA en VAN CREVELD, Ned. Tijdschr. v. Geneesk., 2e helft, no. 11, bl. 1297 (1921).

TABEL XXIII.

Veranderingen in het witte bloedbeeld na intraperitoneale injectie
van 200 cM³. NaCl 0.9 0/0.

Datum.	Tijd.	Konijn I.		Konijn II.		Opmerkingen.
		lympho- cyten.	pol. leu- cocyten.	lympho- cyten.	pol. leu- cocyten.	
12 Jan.	10 ³⁰	10175	2500	7650	2075	injectie.
	12 ³⁰	—	—	—	—	
	2	2950	275	2200	75	
	3	2375	75	1000	112	
	4	1700	800	1300	500	
13 Jan.	9 ³⁰	13300	5500	5725	6525	injectie.
	10 ³⁰	—	—	—	—	
	11 ³⁰	7950	5800	4050	1850	
	2	3100	1075	2000	525	

De lymphocyten verminderen ook aanzienlijk, evenwel relatief niet zoo sterk als de polynucleaire leucocyten en meer geleidelijk. Den volgenden dag zijn ze vaak nog niet weer op hun uitgangspunt teruggekeerd en dalen weer op een hernieuwde inspuiting.

Bij beide tevoren niet gebruikte konijnen werd 4¹/₂ uur na de tweede inspuiting, een hoeveelheid afgetapt van 0.25 cc. leucocyten, waarvan bij konijn 1:

pol. leuc. 96.5 0/0 en mon. leuc. 3.5 0/0

dus: pol. leuc. 0.23 cc. en mon. leuc. 0.02 cc.,

bij konijn 2:

pol. leuc, 98.5 0/0 en mon. leuc. 1.5 0/0

dus: pol. leuc. 0.24 cc. en mon. leuc. 0.01 cc.

Gezien deze cijfers lijkt het zeer waarschijnlijk, dat zeer veel polynucleaire leucocyten uit het bloed naar de buikholte geemigreerd zijn; immers ze verdwijnen zeer snel uit het bloed en worden na het eerste uur reeds in het exsudaat gevonden (zie hoofdstuk I).

Voor de lymphocyten, die meer geleidelijk uit het bloed verdwijnen, is de zaak veel meer gecompliceerd. Terwijl ze wel uit het bloed verdwijnen, zelfs absoluut in veel grooter aantal dan de polynucleaire cellen, worden ze niet in het exsudaat gevonden. We komen hierop later nog terug.

Hetzelfde resultaat in algemeene trekken als in deze twee voorbeelden vermeld, werd in al de talrijke proeven met keukenzoutinspuitingen teruggevonden. Hetzelfde was het geval, wanneer in plaats van zuiver keukenzout, een der andere vroeger genoemde waterige vloeistoffen als injectiemateriaal werd gebruikt zooals stijfseloplossing, glucose, rietsuiker, ultra-filtraat etcetera. Ook hier dezelfde snelle daling van het aantal polynucleaire leucocyten, soms onderbroken door een tijdelijke geringe stijging, terwijl de lymphocyten eveneens sterk dalen, maar langzamer en geleidelijker. In de tabellen XXIV tot XXIX blijkt dit voor de verschillende vloeistoffen.

Zooals reeds vroeger in hoofdstuk I is aangegeven, is de samenstelling van de celementen in het gevormde exsudaat eveneens voor al deze vloeistoffen vrijwel dezelfde, als zooeven nog voor NaCl 0.9 vermeld.

Alleen tabel XXIX verdient een korte afzonderlijke bespreking. Het verloop is gedeeltelijk iets anders dan bij de andere vloeistoffen. Ik kon niet uitmaken, of dit een toevallige afwijking was, dan wel een regelmatige, die steeds bij seruminspuitingen voorkomt, omdat uit den aard der zaak inspuiting van groote hoeveelheden zuiver konijneserum bezwaren met zich

TABEL XXIV.

Verloop van het witte bloedbeeld na intraperitoneale inspuiting van
1 gram stijfsel opgelost in 200 cm³ NaCl 0.9 %.

Datum.	Tijd.	Konijn I.		Konijn II.		Opmerkingen.
		lymhho- cyten.	pol. leu- cocyten.	lympho- cyten.	pol. leu- cocyten.	
1 Mei	11	9160	2270	6660	2340	injectie.
	11	—	—	—	—	
	12	4820	1070	3924	1520	
	1	4650	2800	4300	4850	
	2	3556	2070	3184	1641	
	3	2650	2350	2470	1330	
2 Mei	9	5528	3600	4992	5408	injectie.
	9	—	—	—	—	
	10	3936	850	1764	336	
	11	2765	700	2025	475	
	12	1292	1400	2179	1172	

TABEL XXV.

Verloop van het witte bloedbeeld na intraperitoneale injectie van
200 cm³ ultrafiltraat van runderserum.

Datum.	Tijd.	Lympho- cyten.	Pol. leucocyten.	Opmerkingen.
17 Januari	9 ³⁰	10650	2400	injectie.
	12 ³⁰	—	—	
	2	2025	100	
	3	1175	75	
19 Januari	9 ³⁰	9850	2900	injectie.
	10 ¹⁵	—	—	
	11 ¹⁵	6000	850	
	11 ⁴⁵	5300	1500	
	12 ¹⁵	3300	500	
	2 ¹⁵	1900	650	

TABEL XXVI.

Verloop van het witte bloedbeeld bij een konijn na intraperitoneale injectie van 200 cM³. ultrafiltraat van runderserum + 40 cM³ konijneserum.

Datum.	Tijd.	Lympho- cyten.	Pol. leucoeyten.	Opmerkingen.
22 Januari	2 uur	8875	2475	injectie.
	2 ⁴⁵	—	—	
	3 ¹⁵	5475	525	
	3 ⁴⁵	4175	1050	
	4 ¹⁵	3100	1125	
	4 ⁴⁵	1475	150	
23 Januari	11	2925	4425	injectie.
	12 ²⁰	—	—	
	1 ¹⁰	5600	16000	
	1 ⁴⁰	2600	3150	
	2 ¹⁰	1600	1375	
	2 ⁴⁰	2700	1700	
	3 ¹⁰	2575	2675	
	3 ⁴⁰	3100	4400	

TABEL XXVII.

Verloop van het witte bloedbeeld na intraperitoneale injectie van 200 cM³. glucose 4.15 0/0.

Datum.	Tijd.	Lympho- cyten.	Pol. leucocyten.	Opmerkingen.
3 Februari	10 uur	6050	2800	injectie.
	10 ³⁰	—	—	
	11 ³⁰	2100	575	
	12 ¹⁵	1800	1375	
	2 ³⁰	1800	2575	
4 Februari	10	5500	5525	

TABEL XXVIII.

Verloop van het witte bloedbeeld bij een konijn na intraperitoneale injectie van 175 cM³ rietsuikeroplossing 8 0/0.

Datum.	Tijd.	Lympho- cyten.	Pol. leucocyten.	Opmerkingen.
3 Februari	10	6575	2000	injectie.
	10 ⁴⁵	—	—	
	11 ⁴⁵	3075	1025	
	12 ³⁰	2300	625	
	2 ³⁰	1975	1125	
4 Februari	10	5600	4500	

TABEL XXIX.

Verloop van het witte bloedbeeld bij een konijn na intraperitoneale injectie van 100 cM³ steriel soorteigen serum.

Datum.	Tijd.	Lympho- cyten.	Pol. leucocyten.	Opmerkingen.
8 Juni	2	12600	2550	injectie.
	2 ³⁰	—	—	
	3	9450	2625	
	3 ³⁰	8100	2725	
	4	4825	3450	
	4 ³⁰	4925	2950	
9 Juni	5	6450	5300	injectie.
	10	8800	3800	
	11 ¹⁵	—	—	
	12 ¹⁵	3725	1950	
	12 ⁴⁵	3100	2500	
	1 ¹⁵	2500	1200	
	1 ⁴⁵	3560	2675	
	2 ¹⁵	3500	2725	
	2 ⁴⁵	2225	875	
	3 ³⁰	1600	1850	
10 Juni	10	15650	4375	

meebrengt, zoodat de proeven daarmee niet zijn herhaald. Het polynucleaire bloedbeeld is bij de eerste inspuiting namelijk vrijwel gelijk gebleven om later te stijgen. De lymphocyten zijn eerst verminderd om later weer te stijgen. Op den volgenden dag was er voor de hernieuwde inspuiting een matige vermeerdering der polynucleaire leucocyten en nog een kleine vermindering der lymphocyten aanwezig.

Op een herhaalde inspuiting daalde nu het aantal polynucleaire leucocyten sterk, hetgeen eveneens het geval was met de lymphocyten, die naar verhouding nog sterker in aantal daalden. Den volgenden dag was er een vrij sterke vermeerdering van lymphocyten en polynucleaire leucocyten beide. Behalve den eersten dag, waar geen uitgesproken reactie van het polynucleaire bloedbeeld kwam, was de loop van de bloedcurve overigens gelijk aan die bij alle tot nog toe ingespoten vloeistoffen.

Het resultaat in het exsudaat was ook hetzelfde als bij alle andere vloeistoffen. Er waren namelijk 0.75 cc. leucocyten daarin aanwezig, waarvan: polynucleaire leucocyten 88 % en mononucleaire leucocyten 12 %. Evenals bij alle andere proeven was voor absolute steriliteit gezorgd. Bovendien bewezen entingen op agar-agarbodem gedaan, dat de inhoud van de buikholte steriel was.

*Het bloedbeeld na inspuiting van oleum olivarum en
paraffinum liquidum.*

Een vrij sterke wijziging trad nu op in de bloedcurve, wanneer inplaats van waterige vloeistoffen, wederom olie of paraffine werd ingespoten. Wij hebben vroeger gezien, dat onder die omstandigheden ook het exsudaat in het begin zich vormde op

dezelfde wijze met dezelfde celementen, maar dat de cel-emigratie zich over een langer tijdsverloop uitstreckte. We zien uit de curve, dat ook in het bloedbeeld het normale aantal cellen en het normale verhoudingsgetal van de beide hoofdsorten eerst na veel langeren tijd terugkeert.

Komen de polynucleaire leucocyten, die ook hier practisch uitsluitend in het versche exsudaat aanwezig zijn, uit het bloed, dan was te verwachten, dat het verloop van de bloedcurve dit duidelijk zou illustreeren op dezelfde wijze, als in de vorige tabellen. Over het algemeen bleek echter hier de reactie veel onregelmatiger dan bij de waterige injectie-vloeistoffen. Voorbeelden illustreeren het best het verloop. Deze zijn genomen uit een groot aantal proeven en overzichtelijk gemaakt in tabel XXX tot en met XXXII.

TABEL XXX.

Verloop van het witte bloedbeeld na intraperitoneale injectie van 100 cM³. oleum olivarum.

Datum.	Tijd.	Lymphocyten.	Pol. leucocyten.	Opmerkingen.
24 Augustus	2 uur	9400	4750	injectie.
	2 ³⁰	—	—	
	3	10100	4250	
	4 ³⁰	3375	2500	
25 Augustus	10 ³⁰	2600	1512	
	11 ³⁰	3125	1200	
	2 ³⁰	2700	1275	
	4 ³⁰	6825	3225	
26 Augustus	9 ³⁰	9400	3625	
30 Augustus	11 ³⁰	12650	6750	

Uit tabel XXX blijkt, dat reeds na ongeveer 2 uren een hypoleucocytose van beide soorten leucocyten optreedt, die den volgenden dag nog aanhoudt, om na een paar dagen plaats te maken voor een hyperleucocytose van polynucleaire leucocyten.

TABEL XXXI.

Verloop van het witte bloedbeeld na intraperitoneale injectie van 100 cM³. oleum olivarium.

Datum.	Tijd.	Lymphocyten.	Pol. leucocyten.	Opmerkingen.
26 Augustus	10 uur	9475	4125	injectie.
	10 ⁴⁵	—	—	
	11 ¹⁵	4225	2325	
	12 ¹⁵	4325	2775	
	2 ³⁰	2625	4475	
	3 ³⁰	3100	7600	

Bij tabel XXXI is het verloop iets anders; denzelfden dag treedt na een aanvankelijke hypoleucocytose van polynucleaire leucocyten reeds 4 à 5 uur later een hyperleucocytose dezer cellen op. De lymphocyten waren ook hier weer zeer sterk verminderd en hield de daling veel langer aan. In vele gevallen merkt men niets van een hypoleucocytose, maar treedt reeds direct een hyperleucocytose op zooals in tabel XXXII.

Uit deze tabel blijkt, dat direct een hyperleucocytose volgt van polynucleaire leucocyten, die haar hoogtepunt bereikt op den derden dag en dat het aantal lymphocyten zeer sterk afneemt, het sterkst op den eersten dag. Na een week begint het

TABEL XXXII.

Verloop van het witte bloedbeeld na intraperitoneale injectie
van 50 cM³ oleum olivarium.

Datum.	Tijd.	Lympho- cyten.	Pol. leucocyten.	Opmerkingen.
31 Augustus	10 ³⁰	4100	2650	injectie.
	11	—	—	
	11 ³⁰	3800	7175	
	12	4500	7350	
	2	2275	5775	
	3	1250	7300	
	4	1500	6250	
1 September	10	3000	5225	injectie.
	11 ⁴⁵	2575	10650	
6 September	10	4150	4200	
	10 ³⁰	—	—	
	11	3325	4350	
	2 ⁴⁵	2200	8225	
	4 ⁴⁵	1450	6875	
7 September	2 ³⁰	3400	5750	
10 September	10	4200	4550	
14 September	3	3500	4775	
24 September	2 ³⁰	4175	4150	
28 September	11 ³⁰	5200	3125	

bloedbeeld weer naar den norm terug te keeren; een herhaalde inspuiting op 6 September laat het aantal polynucleaire leucocyten, dat na de inspuiting gedurende 3 weken verhoogd is, op 28 September weer tot ongeveer den norm terugkeeren. De

lymphocyten, die gedurende de eerste 2 dagen sterk in aantal waren verminderd, keeren reeds den tweeden dag tot het uitgangspunt terug.

Uit deze tabellen, genomen uit zeer vele onderzoeken (een 20tal) blijkt, dat niet altijd een leucopenie van polynucleaire leucocyten is te constateeren, zooals men zou verwachten uit het zeer groote aantal dier cellen in de buikholte, wel altijd de daarop volgende hyperleucocytose, die zonder uitzondering na inspuiting van oleum olivarum optreedt. Het is mogelijk, dat een voorbijgaande leucopenie, die ook hier wel aangeduid is, minder duidelijk tot uiting komt, doordat de compenseerende reactie vanuit de bloedvormende organen hier sneller optreedt dan bij de injectie van waterige vloeistoffen.

Op een andere verklaringsmogelijkheid kom ik terug na bespreking van het bloedbeeld na paraffineinspuiting. Constant is echter een duidelijke hypoleucocytose van lymphocyten, die langeren tijd aanhoudt, meestal ruim een week.

Uit deze onderzoeken blijkt dus, dat meestal na olieinspuitingen in de buikholte, een kortdurende geringe hypoleucocytose van polynucleaire leucocyten ontstaat, die kan worden verklaard door de emigratie van polynucleaire leucocyten, die in het exsudaat worden gevonden.

Voor de lymphocyten of mononucleaire leucocyten is de zaak veel meer gecompliceerd. Hierop zal later worden teruggekomen.

De emigratie in een olieexsudaat gaat steeds door, wat blijkt uit het onderzoek van het exsudaat op verschillende tijden. Bijna altijd is, zoolang nog olie aanwezig is, een bepaald procentgetal polynucleaire leucocyten aanwezig, terwijl verder allerlei resten van polynucleaire cellen aanwezig zijn, zooals in hoofdstuk I is beschreven. Daardoor is misschien ook wel de langdurige hyperleucocytose van polynucleaire leucocyten

te verklaren. Men kan aannemen, dat er een hyperleucocytose daarvan bestaat, zoolang de prikkel tot nieuwvorming dezer cellen door het voortdurend verbruik aanwezig blijft. In dien zin zou dus het verdwijnen van het abnormale bloedbeeld, het ophouden van de abnormale emigratie beteekenen.

Alles tezamen genomen is het resultaat dus, dat gedurende een zekeren tijd na de olieinjectie, vrijwel als regel het bloedbeeld het omgekeerde is van het normale. De polynucleaire cellen overwegen in dezelfde mate als vroeger de mononucleaire cellen, terwijl het totale aantal cellen niet belangrijk is veranderd, dus een verandering, die overeenkomstig is aan die met havervoeding. Deze omkeering van het bloedbeeld gaat in den loop van eenige weken geleidelijk terug tot normale verhoudingen.

Wordt het beenmerg uitgeput, dan ontstaat er weer een hypoleucocytose. Dit was het geval bij een konijn, dat ik 2 weken na een olieinspuiting weer in handen kreeg met een ballonvormig gezwollen buik, waaruit een groote hoeveelheid exsudaat werd verkregen (honderden cc.), bevattende een leucocytensuspensie van niet minder dan 15 cc. zuiver leucocyten, waarvan:

mononucl. leucoc. 70 % en pol. leucoc. 30 % en
ontelbare resten daarvan.

Het bloedbeeld was als volgt:

mononucl. leucoc. 2175 en pol. leucoc. 500.

Nadat het exsudaat met de olie verwijderd was, steeg het aantal polynucleaire leucocyten in het bloed weer snel.

Na 4 dagen was het bloedbeeld:

mononucl. leucoc. 4600 en pol. leucoc. 7200.

Hier trad dus de hyperleucocytose op na de leucopenie, omdat de reden voor het groote verbruik van polynucleaire

leucocyten was opgeheven. Weer 2 weken na dien tijd was de buik weer sterk opgezet en het konijn nog meer vermagerd. Het nu afgetapte vocht bevatte weer minstens 15 cc. leucocyten, waarvan waren:

mononucl. leucoc. 60 % en pol. leucoc. 40 %.

Er bleek nog vrij wat olie in het exsudaat aanwezig te zijn. Twee dagen later succombeerde het konijn. De buikholte bleek nog veel olie te bevatten, voor een deel omgezet, voor een deel opgenomen door het bindweefsel en voor een deel vereenigd in een conglomeraat neergeslagen uit het exsudaat.

Vergelijken wij nu hiermede het resultaat van de inspuitingen met *paraffinum liquidum*, een moeilijk chemisch aantastbare stof, welke, zooals reeds vroeger gemeld, in aansluiting met die van olie werden verricht. Bij mijn proeven met paraffine kreeg ik evengoed een exsudaat van polynucleaire leucocyten, als met alle andere stoffen. Het spreekt vanzelf, dat de paraffine zuiver was en nauwkeurig werd gesteriliseerd.

Het is mij niet gelukt, een duidelijke hypoleucocytose van polynucleaire leucocyten te verkrijgen, door het inspuiten van paraffine in de buikholte; wel was deze vaak aangeduid. Overigens komt het verloop vrijwel overeen met dat na vetinspuiting, zooals ook het exsudaat zelf. Omtrent deze proeven kunnen dus dezelfde beschouwingen gelden als over die met vetinspuitingen. De resultaten ziet men in de tabellen XXXIII tot XXXV.

Uit deze tabellen blijkt, dat zoo er al een vermindering van polynucleaire leucocyten ontstaat, deze van zeer geringe betekenis is. Het aantal lymphocyten daalt in de beide eerste gevallen zeer duidelijk. Onderzoekt men echter het bloedbeeld langer, dan blijkt, dat later een hyperleucocytose van polynucleaire leucocyten ontstaat.

TABEL XXXIII.

Verloop van het witte bloedbeeld van intraperitoneale injectie van
50 cM³. paraffinum liquidum.

Datum.	Tijd.	Lympho- cyten.	Pol. leucocyten.	Opmerkingen.
17 September	9 ³⁰	7175	1550	injectie.
	10 ⁴⁵	—	—	
	11 ¹⁵	6525	1425	
	11 ⁴⁵	4750	1575	
	12 ¹⁵	3400	1375	
	3	6200	2750	
20 September	10	5300	3250	
21 September	10	5475	4225	
24 September	10 ³⁰	7025	7250	
4 October		6400	3550	

TABEL XXXIV.

Verloop van het witte bloedbeeld na intraperitoneale injectie van
50 cM³. paraffinum liquidum.

Datum.	Tijd.	Lympho- cyten.	Pol. leucocyten.	Opmerkingen.
23 November	9 ³⁰	7575	2800	injectie.
	11	—	—	
	12	5175	2475	
	2 ¹⁵	8400	2875	

Het bloedbeeld kan eveneens een zeer grillig verloop hebben, zooals blijkt uit tabel XXXV.

TABEL XXXV.

Verloop van het witte bloedbeeld na intraperitoneale injectie van 50 cM³. paraffinum liquidum.

Datum.	Tijd.	Lympho- cyten.	Pol. leucocyten.	Opmerkingen.
30 November	10 uur	7075	2525	injectie.
	11	—	—	
	11 ³⁰	6675	2975	
	12	5550	2250	
	2 ¹⁵	5450	5475	
	3 ¹⁵	5625	7275	
1 December	9 ³⁰	4000	5150	
2 December	10	4325	1475	
	2 ³⁰	6950	2075	

Nadat op den eersten dag een zeer lichte hypoleucocytose zich heeft vertoond, volgt een sterke hyperleucocytose van polynucleaire leucocyten, die op den tweeden dag weer plaats maakt voor een matige hypoleucocytose. Meestal ontgaat de hypoleucocytose aan de aandacht en constateert men alleen een hyperleucocytose, evenals dit het geval is bij vele infectieziekten.

De lymphocyten vertoonen weer veel regelmatig beeld; er bestaat hier gedurende de eerste dagen een matige hypoleucocytose van lymphocyten.

Samenvattende conclusies.

Vatten wij nu het resultaat samen, wat betreft het gelijktijdige onderzoek van het exsudaat, dat door inspuiting van een vloeistof in de buikholte wordt verwekt en van het bloedbeeld van het gebruikte dier, dan blijkt, dat *bij de inspuiting van waterige vloeistoffen, zoo goed als altijd in 't begin een sterke hypoleucocytose van polynucleaire leucocyten optreedt. Deze hypoleucocytose van polynucleaire leucocyten laat zich zeer aannemelijk verklaren door het snel optreden in het exsudaat van polynucleaire leucocyten.* Deze worden aan het bloed onttrokken. Hierover bestaat wel geen verschil van meening meer.

Bij inspuiting van niet met water mengbare stoffen als *oleum olivarum* en *paraffinum liquidum* verkrijgt men eveneens emigratie van polynucleaire leucocyten in de buikholte. Hier vertoont het bloedbeeld echter aanvankelijk niet die groote veranderingen als bij waterige vloeistoffen en dan betreft de vermindering vooral de lymphocyten.

Op de kortdurende en weinig uitgesproken hypoleucocytose van de polynucleaire leucocyten volgt constant een hyperleucocytose. Deze kan worden verklaard door een prikkeling van het beenmerg, door NÄGELI als een orgaan beschouwd, dat op prikkeling sterker begint te functionneeren. In het midden latende, wat de oorzaak van die prikkeling is, staat wel onomstootelijk vast (WERIGO en JEGUNOW ¹⁾ e. a.), dat de hoofdzaak van de polynucleaire leucocyten van het bloed, uit het beenmerg stamt. Dat dus secundair een hyperleucocytose optreedt, is zeer goed te verklaren door een overcompensatie van het door de emigratie geleden verlies.

¹⁾ l. c.

Ook wat betreft deze *secundaire hyperleucocytose*, geeft injectie met waterige vloeistoffen een eenigszins ander beeld, dan die met olie en paraffine. Na inspuiting van de eerste, zien we eenige uren na de injectie de afname der witte bloedlichaampjes ophouden; het aantal stijgt geleidelijk weer voor beide soorten cellen en na 24 uur vindt men meestal een geringe, soms een aanmerkelijke leucocytose van beide soorten cellen met misschien gemiddeld een relatieve toename van de hoeveelheid polynucleaire leucocyten, maar toch nog meestal een overwegend lymphocytair bloedbeeld. In den loop van een paar dagen verdwijnt deze afwijking; het bloedbeeld is weer geheel normaal, om na een hernieuwde inspuiting op geheel analoge wijze wederom te reageeren.

Anders evenwel is het beeld na de olieinspuiting. Na de weinig uitgesproken hypoleucocytose volgt hier een veel duidelijker gemarkeerde secundaire afwijking; het komt hier tot een algemeene leucocytose, waarbij vooral de polynucleaire cellen zijn vermeerderd; eerst langzaam keert het totale aantal leucocyten tot den norm terug, terwijl ook dan nog enkele weken lang het bloedbeeld omgekeerd blijft; eerst na weken keert geleidelijk het overwicht der lymphocyten terug.

Wat de aanvankelijke verandering betreft, stemt in de enkele daaromtrent genomen proeven, de inspuiting van serum eenigermate met die van vetten overeen.

Deze secundaire reactie is evenwel voor ons doel minder belangrijk. Ons interesseert het te zien, hoe het bloed in de eerste uren reageert bij de vorming van het exsudaat. En dan valt direct op de discongruentie, die er bestaat tusschen het verdwijnen van cellen uit het stroomende bloed en het optreden van cellen in het exsudaat. Na een injectie zien we alle cellen gelijkelijk uit het bloed verdwijnen en daar het bloedbeeld

overwegend lymphocytair is, verdwijnen in hoofdzaak mononucleaire cellen; in de eerste plaats valt dit op voor vetten (en serum), waar de mononucleaire cellen vrijwel de eenige zijn, waarvan het verdwijnen opvalt, hoewel minder sterk dan na inspuiting van waterige vloeistoffen; en toch is het resultaat in alle gevallen en zeker niet het minst bij vetachtige stoffen, een exsudaat, dat vrijwel geheel uit polynucleaire cellen bestaat. Ik kom hier aan het vraagpunt, dat reeds door DE HAAN¹⁾ aan het einde van zijn dissertatie is aangeroerd; hoe moeten we deze discrepantie verklaren?

Om dit te verklaren, waren verschillende onderstellingen mogelijk:

1. De mogelijkheid bestaat, dat de lymphocyten niet als de polynucleaire leucocyten uit de vaten treden, maar alleen capillair worden vastgehouden, om later weer in het stroomende bloed terug te keeren. Dat dit zonder meer het geval zou zijn, is niet waarschijnlijk, daar verschillende onderzoekers, die de exsudaatvorming hebben bestudeerd, naast de polynucleaire leucocyten ook lymphocyten zagen emigreeren.

2. Het is mogelijk, dat de uitgetreden lymphocyten ergens na het uittreden in het weefsel blijven hangen. Zulks is in overeenstemming met de organisatorische neigingen van het lymphocytair cetype.

3. De mogelijkheid bestaat, dat alle bloedcellen emigreeren, maar dat gedurende dat proces de lymphocyten, naast het sub. 2 genoemde, voor een grooter of kleiner deel in polynucleaire leucocyten veranderen.

Hiermede komen wij aan de aloude strijdvraag, over het al of niet principieele verschil tusschen het mononucleaire en het

¹⁾ l. c.

polynucleaire celtype, de strijd tusschen de *unitarische leer*, die beide celsoorten voor zoodanig verwant houdt, dat de polynucleaire cellen ontstaan uit mononucleaire, en de *dualistische leer*, die beide soorten in den grond verschillend verklaart. De laatste verklaring beteekent het aanvaarden van het unitarische standpunt over de bloedgenese.

Men is het er wel in het algemeen over eens, dat de (neutrophiele) gegranuleerde cellen, eenmaal ontstaan, een type op zichzelf vormen, waarvoor geene mogelijkheid meer bestaat tot overgang in andere celsoorten. Ook wat de lymphocyten betreft, wenscht het meerendeel der onderzoekers, deze cellen beschouwd te zien als een type sui generis, dat onder geen omstandigheden kan overgaan in gegranuleerde cellen; de mogelijkheid om deze laatste te vormen, zou alleen zijn weggelegd voor een aparte celsoort, die weliswaar in vele opzichten op de lymphocyten zou gelijken, maar er toch in fundamenteel opzicht van zou verschillen en welke met den naam van „*myeloblasten*” wordt bestempeld. Deze zouden normaal alleen in het beenmerg voorkomen, en alleen bij hooge uitzondering en in zeer pathologische toestanden, zou ook op andere plaatsen door „*metaplasie*” van aanwezige cellen der vaatadventitia een soort beenmerg of myeloid weefsel kunnen ontstaan. Deze dualistische theorie, het ijverigst van klinische zijde en vooral door NÄGELI¹⁾ gepropageerd, telt tegenwoordig wel de meeste aanhangers; een lymphocyt wordt nooit een gegranuleerde cel; deze kan alleen ontstaan uit *myeloblasten* langs den omweg van de gekorrelde, groote eenkernige *myelocyten*.

Daarnaast vindt nog steeds de eenheidsleer talrijke verdedigers

¹⁾ NÄGELI, Die Blutkrankheiten und Blutdiagnostik, Leipzig, 1919.

en wel in de eerste plaats WEIDENREICH¹⁾ en MAXIMOW²⁾). Zij steunen hierop, dat in elk geval embryonaal van een principiele scheiding tusschen gegranuleerde en niet gegranuleerde cellen geen sprake is, dat bij lagere dieren overgangen tusschen beide celsoorten zijn geconstateerd, verder hierop, dat het tot nu toe nooit is gelukt aan myeloblasten specifieke kenmerken toe te kennen, die ze principieel zouden onderscheiden van andere cellen van het mononucleaire type. Hiertegenover beweren wederom de dualisten, dat een dergelijk principieel verschil gegeven zou worden o.a. door de *oxydase-reactie*, die voor myeloblasten positief, daarentegen voor lymphocyten steeds negatief uitvalt.

De eenheidsleer is bevredigender daarom, omdat zij meer in overeenstemming is met het feit, dat bloed en bindweefsel in ons lichaam bij uitnemendheid de dragers zijn van typische embryonale kenmerken; het is het weefsel, waaruit alles kan worden onder daarvoor gunstige omstandigheden; hierdoor was het mogelijk, dat zeer talrijke vormen van min of meer bewegelijke z.n. „zwercellen” in de verschillende deelen van het lichaam werden beschreven en van telkens nieuwe namen voorzien. Het is moeilijk hier nauwkeurig omschreven kenmerken aan te geven, omdat deze cellen niet dan in los verband blijven en verschillende soorten cellen in elkaars onmiddellijke nabijheid kunnen worden aangetroffen.

Door deze overgangsmogelijkheid aan te nemen, zou het begrijpelijker worden, dat in het verloop van het leven het aantal lymphocyten in het bloed, ondanks den voortdurenden

¹⁾ WEIDENREICH, Die Leukozyten und verwandte Zellformen, Wiesbaden, 1911.

²⁾ MAXIMOW, Fol. haemat, Bnd. 8, bl. 125.

toevloed, procentsgewijs steeds meer afneemt, in plaats van steeds grooter te worden, zooals men zou moeten aannemen, omdat men nagenoeg geen lymphocyten ziet te gronde gaan en emigratie niet in die mate plaats vindt als bij polynucleaire leucocyten. Als men echter aanneemt, dat er voortdurend een deel van de normale productie van het lichaam aan lymphocyten ergens in het lichaam zijn einde vindt als polynucleaire leucocyten, is het gehandhaafd blijven van het evenwicht geheel verklaard.

Ik heb nu nagegaan door het microscopisch onderzoek van de bekleedende organen van de buikholte; in de eerste plaats van het net en verder van mesenterium, darmwand, milt enz., of werkelijk op die plaatsen de overgang van lymphocyten in polynucleaire cellen kon worden geconstateerd.

3. HISTOLOGISCH ONDERZOEK VAN HET WEEFSEL, DAT HET EXSUDAAT BEGRENST (NET, MILT, MESENTERIUM).

Als injectievloeistoffen werden o.a. NaCl 0.9 % en soorteigen serum genomen. Evenals bij alle vroegere proeven werd een strenge asepsis in acht genomen. Deze asepsis is hier zooveel te meer noodig, omdat het aan DOMINICI¹⁾ gelukt is, door het inspuiten van de EBERTSCHE bacil, myeloide veranderingen in de buikholtebekleedende organen te veroorzaken.

Een der konijnen, die voor het onderzoek werd gebruikt, was als volgt behandeld:

Eerst op twee achtereenvolgende dagen inspuiting met telkens 200 cc. NaCl 0.9 %; op tweeden dag werd afgenomen een suspensie met 0.25 cc.

¹⁾ DOMINICI, C. R. d. I. Soc. d. Biol. LIII, 25, p. 741, 1901.

leucocyten. Ongeveer 14 dagen later werd de inspuiting gedurende drie achtereenvolgende dagen herhaald en den derden dag afgeheveld meer dan 1 milliard leucocyten. Wederom 6 dagen later werd de inspuiting weer op 3 achtereenvolgende dagen herhaald, daarna werden op den derden dag 4 milliard leucocyten afgenomen, en ongeveer 4 uren na een hernieuwde inspuiting op den vierden dag werd het konijn gedood.

De buikholte bevatte meer dan 150 cc. vocht met een ontzaglijke hoeveelheid leucocyten. Alle buikingewanden waren zeer sterk hyperaemisch. Vooral het omentum was bloedrijk en tot een grijs-bruin weefsel gezwollen. Tot nader microscopisch onderzoek werd het net en twee stukken van het mesenterium met daaraan bevestigde dunne darm in sublimaatformol gefixeerd.

Coupees door het net en door het mesenterium, gekleurd volgens GIEMSA, toonden nu, dat in dit bloedrijke weefsel een groot deel van de uit het bloed verdwenen witte bloedlichaampjes was gedeponneerd; ze lagen in en om de bloedvaten, soms in groote conglomeraten, bestaande uit lymphocyten van verschillende grootte tot plasmacellen toe; tusschen deze opeeningingen bevonden zich hier en daar vetcellen en vooral bindweefsel, dat het uitgesproken type vertoonde van regeneratieweefsel; groote fibroblasten, nieuw gevormde capillairen, plasmacellen tot macrophagen toe; verschillende celsoorten vertoonden op enkele plaatsen kerndeelingsfiguren. Verder was het geheele weefsel doortrokken met een aantal polynucleaire leucocyten, in groot aantal vooral tegen den vrijen rand van het weefsel; dit bleek zeer duidelijk bij een praeparaat van een dun gedeelte van het vlies, van boven op de vlakke gezien; hier waren verreweg de meeste cellen polynucleair.

Een aantal van de mononucleaire cellen vertoont nu duidelijk den overgang tot den polynucleairen vorm; hier en daar lagen *grootere en kleinere celnesten, soms ook losse cellen, voor het grootste of voor een kleiner deel uit myelocyten bestaande,*

groote cellen met een ronde of licht ingebochte kern en met uitgesproken granulatie van hetzelfde karakter als die van de gewone polynucleaire cellen; dat deze cellen met andere groo-tere en kleinere ongegranuleerde cellen van het type der lymphocyten en plasmacellen één opeenhooping vormden, maakte het ontwijfelbaar, dat deze myelocyten door omvorming uit lymphocyten ontstonden; een deel dezer cellen was vrij klein en van het lymphocytentype, andere waren reeds groot, maar zonder korreling. Deze opeenhoopingen lagen meest perivascular. Enkele myelocyten werden in stadiën van indirecte deeling aangetroffen. Daarnaast werden conglomeraten gevonden van reeds nagenoeg volwassen polynucleaire leucocyten. Praeparaten van het normale net vormden met dit beeld een schrille tegenstelling; rustige endotheelcellen met wat rustende bindweefselcellen er tusschen.

Het mesenterium vertoonde dezelfde veranderingen als het omentum; zelfs in den darmwand en in een mesenterieele lymphklier werden myelocyten aangetroffen.

Bij andere konijnen, die eveneens met keukenzoutoplossing waren ingespoten, was het resultaat hetzelfde. Hier werd eveneens de milt in het onderzoek betrokken. Opmerkelijk was hier het voorkomen van meerdere myelocyten bij elkaar in de bloedlacunen.

Een met serum ingespoten konijn vertoonde dezelfde afwijkingen in de buikorganen.

Op deze wijze was door den geringen prikkel van de eenige keeren herhaalde keukenzout- of seruminspuiting in de buikholte, deels door locale reactie, maar grootendeels door vastlegging van bloedelementen, een nieuwvorming ontstaan van reusachtige uitgebreidheid, waar zich hadden gedeponeerd de uit het bloed verdwenen lymphocyten, welke nu met het bloedrijke

regeneratieweefsel aan het geheel tijdelijk het kenmerk gaven van myeloid weefsel.

Hiermede is dus opgehelderd in de eerste plaats de verdwijning der lymphocyten uit het stroomende bloed, alsook het feit, dat ondanks dit verdwijnen, practisch alleen polynucleaire cellen in het exsudaat worden aangetroffen; de lymphocyten zijn ten minste voor een deel in polynucleaire cellen veranderd.

Hierdoor wordt tevens een factor aan de hand gedaan, welke kan verklaren, dat op een later herhaalde inspuiting het dier reageert door een veel sneller optreden van polynucleaire cellen in het exsudaat; het myeloide weefsel in de buikholte is nog niet weer geheel tot rust gekomen en reageert op den nieuwen prikkel weer door oogenblikkelijke omvorming van de aanwezige en de aangevoerde lymphocyten in gegranuleerde cellen. Het is natuurlijk mogelijk, dat als de herhaalde inspuiting slechts korten tijd na de eerste plaats heeft, in de weefsels om de buikholte tevens nog een groot aantal polynucleaire cellen voorhanden is, hetwelk voor een groot deel de snellere toeloop zou helpen tot stand brengen; dit is evenwel niet meer aannemelijk, als latere injecties een of meer maanden na de eerste worden verricht en eveneens snellere emigratie daarbij optreedt. Verder zal natuurlijk ook een grootere uitbreiding van het capillairnet een snellere emigratie in de hand werken.

We kunnen dus concluderen, dat *de inspuiting van NaCl 0.9 % of een andere vloeistof een prikkel vormt, waardoor het overgrote deel der op een bepaald oogenblik in het stroomende bloed aanwezige bloedlichaampjes zich ophoopt in de buikcapillairen; daarnaast komt een reactie van de bindweefsel-elementen op denzelfden prikkel en dit geheel geeft het aanzijn aan een weefsel, dat volkomen gelijkt op myeloid weefsel.*

Hieruit blijkt nog weer eens een keer, dat de in het

stroomende bloed geconstateerde verhouding der witte bloedcellen slechts een zeer onnauwkeurig beeld geeft van de verhouding, waarin ze kunnen voorkomen in het geheele bloedvatensysteem. Uit een vinger, uit de oorvenen komen slechts die witte bloedlichaampjes, die in den stroom worden meegesleept. Verreweg het grootste gedeelte zal echter in het capillairgebied, waar de oppervlaktewerking zoo ontzettend groot is, meer of minder worden vastgehouden, afhankelijk van den aard van dat capillairgebied; milt, beenmerg en lever zullen, dit leert ook het experiment, onvergelykelijk meer vasthouden dan bijv. indifferente gebieden als het onderhuidsche weefsel. Een geringe prikkel als een inspuiting van een vrijwel onschadelijke vloeistof in de buikholte kan die adhaesie lokaal sterk doen toenemen en na enkele herhalingen zoo het bloedvatensysteem langs de buicapillairen schoon zeven van witte bloedlichaampjes. In geringe mate zal dit ongetwijfeld voortdurend normaal plaats hebben ten minste in bepaalde vaatgebieden. In deze locale ophooping komt het nu door deeling tot celvermeerdering en tevens celdifferentieering, dus tot een tijdelijk en verplaatsbaar vormingsorgaan van de witte bloedlichaampjes. Dit orgaan is dan zoowel uit het bloed als uit bindweefselementen afkomstig. *Van dit standpunt bezien, zouden we het beenmerg kunnen beschouwen niet alleen als de plaats, die bloedelementen aan het bloed levert; we zouden met evenveel recht kunnen zeggen, dat omgekeerd in het beenmerg de elementen van het bloed uit dit bloed voortdurend capillair geattrahceerd worden, als voortzetting van hetgeen embryonaal geschiedt bij de beenvorming. Op die wijze zal een weefsel ontstaan, dat op zijn beurt het bloed weer verjongt, en we hebben dus te doen met het eeuwige proces van omkeering en evenwicht, dat we bij alle functies der levende cel terugvinden.*

We kunnen de kwestie nog verder uitspinnen; vanaf het oogenblik, dat zich embryonaal het bloed vormt, komt er een onmiskenbare scheiding tusschen het weefsel en het bloed, zich o.a. uitend in het verschillende eiwitgehalte en het verschillende celkarakter. Als een uiting van dit verschil zijn bijv. in het weefselvocht niet meer bestaanbaar de polynucleaire cellen, die in het bloed thuis hooren. Maar aan den anderen kant bestaat er ontwijfelbaar een attractie tusschen de twee elementen, die vooral tot uiting komt in de capillaire gebieden; daar is de scheiding minder uitgesproken, daar heeft uitwisseling plaats van cellige en opgeloste bestanddeelen. We zouden nu kunnen zeggen, dat bloed en weefsel een tegengesteld bestaan hebben, een tegengestelde lading tot op zekere hoogte. Dientengevolge hebben de in het bloed zwervende cellen altijd een affiniteit tot de weefsels (capillairattractie), de weefsels tot het bloed. We kunnen nu wel met zekerheid aannemen, dat de weefselcellen, de lymphocyten, in het bloed gekomen, hunne in het weefsel voorhanden eigenschappen niet onveranderd zullen bewaren; als alles wat leeft, moeten ze in een ander milieu hun protoplasma wijzigen, waar alle celleven immers niets anders is dan een wisselwerking van het protoplasma met de omgeving.

Waar nu de neutrophiele cellen alleen in het bloed (of daarmede overeenkomstig weefsel) bestaanbaar zijn, is het niet meer dan logisch, dat het ontstaan van de neutrophiele korreling met alle levenseigenschappen, die daarmede annex zijn, een gevolg moet zijn van de levensvoorwaarden, die het bloed biedt, welke dit ook zijn (men zou kunnen denken aan de aanwezigheid van roode bloedlichaampjes, hooger eiwitgehalte, enz. enz.). Het een werkt in op het ander en het andere weer op het een; men zou zich b.v. best kunnen voorstellen, dat de vorming der roode bloedlichaampjes en neutrophielen het gevolg is van

het hoge eiwitgehalte en dit laatste weer omgekeerd zijn ontstaan dankt aan de genoemde cellige elementen, b.v. ten gevolge van het in massa te gronde gaan van deze. Evenzeer is mogelijk, dat alleen bepaalde veranderingen in het bloed (langzamer stroom of gewijzigde reactie) den prikkel vormen, die leidt tot de omvorming van het protoplasma, welke dan irreversibel is.

Daaruit volgt, dat bij den voortdurenden aanvoer van weefselcellen in het bloed een soort evenwicht moet ontstaan. De voortdurend gevormde neutrophiele cellen, als dragers van de bloedeigenschappen bij uitnemendheid, zullen ook het sterkst de neiging hebben tot emigratie; daar evenwel hun protoplasma deels irreversibel is veranderd, men zou kunnen zeggen gespecificeerd, gaan ze nu in het weefsel snel te gronde en wel het meest lytisch.

Deze emigratie zal steeds komen, op alle plaatsen waar, en in alle gevallen, dat de tegenstelling tusschen bloed en weefsel vergroot wordt, en dit zal o.a. het geval kunnen zijn bij elke abnormale weefselfunctie, zooals het gevolg is van elke injectie. De verhoogde tegenstelling leidt tot verhoogde emigratie van polynucleairen en tot sterke attractie van bloedlymphocyten. Bij deze ophooping in massa in de capillairen wordt echter zeer spoedig de tegenstelling geneutraliseerd, d. w. z. de verschillen tusschen bloed en weefsel worden vervaagd; er komt wat wij noemen myeloid weefsel; eensdeels leveren de endotheelcellen nieuwe capillairen, treden dus in contact met het weefsel, daarnaast treden ook lymphocyten, gegranuleerde cellen en bloedeiwit tusschen de weefselementen. De embryonale toestand keert terug, de verschillende celtypen, die hier gevonden worden, houden elkaar in evenwicht en hier zien we nu ook de omvorming van lymphocyten in gegranuleerde cellen, welke

daarop verder kunnen emigreeren naar het exsudaat, als de weefselprikkel nog doorwerkt, of zich in het bloed storten. In overeenstemming hiermede zien we zeer spoedig de verstoring van het evenwicht weer opgeheven worden. Dat er werkelijk alle reden is voor een dergelijke beschouwingswijze, voor het aannemen van een tegenstelling in lading tusschen bloed en weefsel, daarvoor pleiten mijn eigen experimenten in het laatste hoofdstuk vermeld.

Een dergelijke plaatselijke menging van bloed en weefsel zou nu ook voor het beenmerg en analoge weefsels aangenomen kunnen worden, onder den invloed van een permanent aanwezig prikkel, die de elementen van het bloed vasthoudt en steeds vernieuwt. Myeloblasten zullen dus in dezen gedachten-gang alleen daar uit ongedifferentieerde cellen kunnen ontstaan, waar bepaalde eigenschappen van het bloed zich nog doen gelden, dus in de onmiddellijke nabijheid van, waarschijnlijk ook wel in de bloedvaten; naar allen schijn zijn de factoren hiervoor vooral aanwezig, als zich vele lymphocyttaire cellen plaatselijk bij ruime aanwezigheid van bloedelementen ophoopen, en komt het daartoe in het geheel niet, als de invloed van het bloed niet meer dan verwijderd zich doet gelden. Zoo is het te verklaren, dat de metaplasie in myeloid weefsel in de milt nooit gevonden wordt in de lymphfollikels, maar altijd in de bloedrijke pulpa. Immers de pulpa is bij uitnemendheid een weefsel, waarbij bloed en weefsel onontwarbaar gemengd zijn. Op grond o.a. van het hier medegedeelde lijkt het ons daarom aangewezen, liever niet te spreken van gespecificeerde cellen van het bindweefseltype, maar van cellen, die onder verschillende uitwendige invloeden, zoowel afhankelijk van het vloeibare milieu als van cellen in de buurt, een verschillende ontwikkeling kunnen doormaken, van welke ontwikkelingsvormen alleen de

speciaal gegranuleerde cellen een niet voor verdere verandering vatbaar karakter dragen. De verschillende eigenschappen van bloed en weefsel maken daarbij, dat we twee hoofdtypen zien verschijnen, waarvan het eene hier, het andere op andere plaatsen praevaleert; zoo toont het beenmerg normaal in hoofdzaak de omvorming in gegranuleerde cellen en blijft de milt lymphoid, evenwel lang niet uitsluitend.

Onder *pathologisch veranderde omstandigheden* in het milieu, kan evenwel de ontwikkeling der cellen zich wijzigen, zooals het geval is bij de verschillende leukaemieën.

Het blijft voor verder onderzoek weggelegd, tot oplossing te brengen de vraag, welke de redenen, de factoren zijn, waardoor in het beenmerg nu eens meer, dan eens minder omvorming in myelocyten gevonden wordt, waarom de milt zich quantitatief anders gedraagt dan het beenmerg. Het ligt voor de hand aan te nemen, dat enkele in dit opzicht werkzame factoren zullen ontstaan door het te gronde gaan van de cellen, die gevormd moeten worden; immers zoo is het te begrijpen, dat de emigratie de prikkel is tot nieuwvorming van polynucleaire cellen in het beenmerg.

4. PROEVEN MET HET CULTIVEEREN IN VITRO VAN LYMPHOID WEEFSEL.

Naar aanleiding van de omvorming in het omentum, mesenterium, lymphklieren en milt, van lymphocyten tot gegranuleerde cellen, onder den invloed van het inspuiten van betrekkelijk onschadelijke vloeistoffen in de buikholte, kwam het mij gewenscht voor te beproeven, door kweken in vitro, uit lymphoid weefsel, myeloid weefsel te verkrijgen.

Tegen de proeven van SACERDOTTI en FRATTIN¹⁾, die door afbinden van de nierarterien bij een konijn, vorming van beenweefsel en beenmerg in de nier constateerden, en van MAXIMOW²⁾, die door het inbrengen van corpora aliena in lymphklieren, myeloid weefsel in een lymphklier liet ontstaan en bij het herhalen van de proeven met het afbinden van de nierarterien bij een konijn, intra- en perivasculaire den overgang meende te constateeren van lymphocyten in myelocyten en erythrocyten, kon aangevoerd worden, dat langs de bloedbaan deze vreemde elementen daar zouden zijn gekomen. Bij pokken komen immers myelocyten in het bloed voor. Dit zou ook aangevoerd kunnen worden tegen mijn proeven, waar door inspuiting in de buikholte, myeloid weefsel werd verkregen. Indien echter in lymphoid weefsel door kweeken myelocyten ontstaan, moeten deze wel gevormd worden uit de elementen, die reeds ter plaatse aanwezig waren.

Door de onderzoeken van HARRISON, BURROWS, CARREL, ROUS, LEWIS, EBELING, UHLENHUTH en anderen is het mogelijk geworden, met succes dierlijk weefsel in vitro te kweeken. De levensomstandigheden van het gekweekte weefsel moeten voor dit doel gelijk gemaakt worden aan die in het lichaam.

Voor het kweeken van myelocyten zou men dus de levensvoorwaarden van het roode beenmerg moeten nabootsen. Daarvoor was noodig, het weefsel in een thermostaat op de lichaamstemperatuur van het proefdier te houden; voor een konijn is dit 39° Celsius. Om dezelfde chemische bestanddeelen in het gekweekte weefsel te verkrijgen, moest extract van beenmerg worden toegevoegd aan het bloedplasma, dat een

1) SACERDOTTI en FRATTIN, Virchow's Arch., Bnd. 168, bl. 431, 1902.

2) MAXIMOW, Beitr. z. path. Anat. u. allg. Path., Bnd. 41, bl. 122.

onmisbare factor is voor het kweken in vitro van het weefsel van warmbloedige dieren.

Toen ik zoo ver gevorderd was, om tot proefneming over te gaan, bleek mij uit de literatuur, dat MAXIMOW¹⁾ in 1917 er reeds in was geslaagd, op deze manier uit lymphklierweefsel myelocyten te kweken. Hij vond na 4 à 5 dagen midden in zijn gecultiveerde weefsel ophooping van myelocyten. Nadere bijzonderheden werden niet gegeven.

Het leek mij daarom toch gewenscht, ook vooral ter eigen overtuiging, deze proeven te herhalen, te meer omdat zijn korte mededeeling in de Compt. rendus. vrijwel onbekend schijnt te zijn, tenminste NÄGELI²⁾ maakt er in de nieuwste uitgave van zijn werk over de bloedziekten geen vermelding van.

Evenals bij alle vorige proefnemingen werd het konijn weer als proefdier gekozen.

De gebruikelijke methode om steriel plasma te winnen kan aanmerkelijk vereenvoudigd worden; in plaats vanuit de carotis of uit de vena jugularis kan men evengoed uit het oor bloed ontnemen, wanneer men slechts voor een goede desinfectie zorgt en het uitstroomen van het bloed vlug geschiedt, door een groot vat aan te prikken. Het bloed wordt opgevangen in een geparaffineerd buisje, dat in smeltend ijs staat. Zoo vlug mogelijk wordt dit buisje eveneens met ijskoeling gecentrifugeerd en wordt het waterheldere plasma met een geparaffineerde pipet afgezogen en overgebracht in een ander geparaffineerd buisje, dat eveneens door ijs afgekoeld wordt. Aldus verkregen plasma bleef dagen lang vloeibaar als het bij 0° Celsius bewaard werd.

Het beenmergextract werd verkregen, door bij hetzelfde dier uit tibia en femur het roode beenmerg te lepelen en dit in een mortier fijn te wrijven in zoo weinig mogelijk Ringer's vloeistof. Dit vocht werd geruimen tijd gecentrifugeerd, om het te bevrijden van beenmergcellen

¹⁾ MAXIMOW, C. R. S. d. Biol.; 69, p. 225 en 235, 1917.

²⁾ l. c.

en vet. Het heldere vocht werd overgebracht in een ander vat. Tegelijkertijd waren aan den hals een paar lymphklieren weggenomen en in Ringer's vloeistof fijn verdeeld.

Het spreekt vanzelf, dat al deze manipulaties onder de strengste asepsis moeten worden verricht; het instrumentarium werd door droge hitte in een oventje gesteriliseerd.

Vervolgens werden de culturen gereedgemaakt, gedeeltelijk op dekglasjes, die omgekeerd op een hol objectglas gelegd werden en gedeeltelijk op glasplaten, die met een ingeslepen ring op een Petrischaal rustten. Het weefselstukje werd het gemakkelijkst verwerkt door het met een nauwe pipet of een capillair aan te zuigen en het hiermee op de glasplaat te brengen. Daarop volgt een druppel beenmergextract en vervolgens een druppel bloedplasma, met een geparaffineerde pipet het laatst erbij gebracht. Meestal volgt vrij spoedig stolling. Het dekglasje wordt vlug op een objectglas met ingeslepen holte geplaatst en luchtdicht afgesloten met gesteriliseerde vaseline. Bij het gebruik van een Petrischaal, waarop dan de glazen plaat met culturen rust, wordt een vochtig filtreerpapiertje in de schaal gelegd, terwijl hier ook door vaseline de ruimte luchtdicht wordt afgesloten, wat noodig is om het uitdrogen der culturen te verhinderen; aan den anderen kant zou te veel vocht ook schaden, doordat het ontstaan van overvloedig condenswater bij infectie van slechts één cultuur, deze zich snel over alle zou verbreiden.

De culturen werden in een thermostaat op 39° Celsius gehouden.

Veel praeparaten vertoonden, in toto onder het microscoop bekeken, een levendige groei; in het plasma rondom het weefselstuk verschenen groote hoeveelheden kleine ronde cellen en ook vele grootere; nadere bijzonderheden waren met de kleine vergrooting, die hier slechts gebruikt kon worden, niet te onderscheiden. Daarvoor was het noodig, de praeparaten verder te onderzoeken in coupes. Hiervoor werden cultures van 1, 2, 3 en 4 dagen oud gefixeerd in sublimaat-formol en vervolgens ingesloten in paraffine. Coupes hiervan werden gekleurd volgens GIEMSA.

Bij de eerste kweekproef, die door mij werd verricht, waren

verschillende cultures door infectie afgestorven; van de overblijvende vertoonden vele een levendigen groei met veel kerndeeligen. *Groote melocytenophooping*en werden aangetroffen met fraaie pseudo-eosinophile korreling, waarvan de kernen wat vaag gekleurd waren. Deze vage kernen waren niet geheel bewijzend voor de aanwezigheid van myelocyten; daarom werd tot een tweede kweekproef overgegaan. Toen werden in cultures van twee en drie dagen oud, myelocyten-ophooping^{en} aangetroffen, die nog een groote verwantschap vertoonden met plasmacellen; het protoplasma was nog eenigszins basisch gekleurd en de korrels amphophiel. Evenals bij de praeparaten van het omentum (zie boven) lagen weer allerlei soorten cellen door elkaar heen; van kleine en groote lymphocyten tot plasmacellen en myelocyten. Verder waren veel kerndeelingsfiguren aanwezig en ook vertoonden de kernen een prachtig kerngeraamte, zeer vaak in het voorstadium der kerndeeling. In het praeparaat en aan den buitenkant werden vaak veel polynucleaire leucocyten aangetroffen, waarschijnlijk reeds gevormd uit lymphoid weefsel.

Door het kweken van myelocyten uit lymphklierweefsel is dus bewezen, dat in dit weefsel elementen voorkomen, die door een bepaalde kweekwijze aanleiding geven tot de vorming van myeloid weefsel. Het ligt dus voor de hand, dat het niet geoorloofd is, een scherp onderscheid te maken tusschen lymphoid en myeloid weefsel, daar men het eene slechts onder andere levensvoorwaarden behoeft te brengen, om het andere weefsel te verkrijgen. Het blijkt hoe langer hoe meer, dat de eigenschappen van vele cellen uitsluitend worden bepaald door de eigenschappen van het milieu, waarin ze verkeer^{en}. De uitwendige vorm van de cellen hangt ten nauwste samen met de consistentie van het omgevende milieu, terwijl de

levenseigenschappen van de cellen in het nauwste verband staan met de fysisch-chemische eigenschappen van het milieu, waarin ze aanwezig zijn. Het is daarom rationeeler, inplaats van volgens de dualistische leer, een specifieke cel, de myeloblast aan te nemen als stamcel van het myeloïde weefsel, het ruimere standpunt in te nemen van de unitarische leer. Deze houdt er rekening mede, dat alle bindweefselementen tot op zekere hoogte onipotēt zijn en dat al die potenties onder verschillende uitwendige omstandigheden, tot uiting kunnen komen. Op deze wijze is het mogelijk, dat het komt tot de bonte verscheidenheid van celvormen, die men in verschillende tinctie en vorm van protoplasma en kern, bijv. in jong regeneratieweefsel steeds weer kan vinden. Zoo lang het niet gelukt is aan te toonen, waarom bijv. het protoplasma der plasma-cellen basophil is en waarom de eene granulatie meer zure, de andere meer basische of neutrale affiniteiten heeft, is het toch eigenlijk niet geoorloofd in willekeurige gevallen van specifieke eigenschappen der cel te spreken. Waarom zou bijv. een lymphocyt, die de oxydase-reactie niet geeft en geen typische granulatie vertoont, een uur later onder gewijzigde omstandigheden, al deze eigenschappen in zijn protoplasma niet reeds tot ontwikkeling hebben gebracht?

De in de beide laatste gedeelten van dit hoofdstuk beschreven onderzoekingen leiden tot de volgende conclusies:

1. dat *bij het ophoopen van de witte bloedcellen in de weefsels om de buikholtē, een deel der mononucleaire cellen overgaat in polynucleaire cellen,*
 2. dat *het eveneens gelukt door cultuur in vitro, het zuiver lymphocyttaire celtype te doen overgaan in myelocyten.*
-

HOOFDSTUK III.

OVER DE OORZAKEN VAN DE EMIGRATIE DER LEUCOCYTEN.

In de vorige hoofdstukken hebben we gezien, onder welke omstandigheden het komt tot emigratie van leucocyten, en nagegaan van waar deze komen. In dit laatste hoofdstuk zal de vraag naar de oorzaken van deze emigratie nader worden behandeld.

1. LITERATUUROVERZICHT.

Over het emigreeren van witte bloedlichaampjes en daarmee samenhangende verschijnselen bestaat een enorme *literatuur*; telkens komt men hierbij ter verklaring van de emigratie op twee eigenschappen van de leucocyten terug n.l. de *amoëboïde beweeglijkheid* en de *chemotaxis*. De eerste is de fundamenteele eigenschap van het protoplasma, zijn vorm te kunnen veranderen. Met den naam chemotaxis of chemotropisme wordt getracht, nader de kracht aan te geven, waardoor de cellen uit het bloed of de weefsels naar den ontstekingshaard worden geleid.

In het hier volgende is getracht een overzicht te geven van hetgeen van deze verschijnselen tot nu toe bekend is.

Amoëboïde beweeglijkheid.

De amoëboïde beweeglijkheid van de polynucleaire leucocyten is reeds zeer lang bekend. Nadat WHARTON JONES in 1846 amoëboïde beweeglijkheid bij de witte bloedlichaampjes van den rog had gevonden en

DAVAINE in 1850 hetzelfde had geconstateerd voor de polynucleaire leucocyten van den mensch, door ze te bestudeeren op een verwarmde objecttafel, droeg SCHULTZE veel bij tot de leer van de beweeglijkheid der polynucleaire leucocyten.

Men vergelijkt de bloedlichaampjes als eencellige wezens graag met andere eencellige organismen n.l. de amoeben, die een eigen beweging hebben door middel van vormveranderingen van het protoplasma. Daarom heeft men de beweging der witte bloedlichaampjes een amoeboide beweging genoemd.

SCHULTZE vond geen amoeboide beweeglijkheid bij de lymphocyten en EHRLICH sloot zich bij deze meening aan; door diens autoriteit wordt nu nog door velen de voortbeweging en daarbij inbegrepen de amoeboide beweeglijkheid der lymphocyten ontkend. Toch is het moeilijk hieraan nog te twijfelen sinds RANVIER in 1875, LOEWIT in 1885, JOLLY in 1903, HELLY in 1905, MAXIMOW in 1902 en verder ROSIN en BIBERGEIL, HIRSHFELD, DEETJEN, SCHRIDDE en anderen de amoeboide beweeglijkheid en voortbeweging zoowel bij dier als mensch, bij deze cellen constateerden. Tegenover een positief feit door zooveel ervaren onderzoekers geconstateerd, hebben negatieve bevindingen geen bewijskracht.

Is er dus eenheid gekomen over het feit, of alle leucocyten instaat zijn tot amoeboide beweeglijkheid, over de oorzaken dezer bewegingsverschijnselen bestaat een zeer groot verschil van meening.

Men trachtte alle verschijnselen langs physisch-chemischen weg te verklaren. RHUMBLER¹⁾ heeft hiertoe veel bijgedragen. De oppervlaktespanningsverhoudingen van de cel tot het omgevende milieu zouden een groote rol spelen in het proces. Hoewel men verschijnselen bij levenloze voorwerpen niet klakkeloos mag overbrengen op levend materiaal, is het toch zeer verleidelijk naar aanleiding van de onderzoekingen van QUINCKE²⁾ en BÜTSCHLI³⁾, een vergelijking te maken tusschen de amoeboide beweeglijkheid van een leucocyt en die van een levenloos voorwerp b.v. een oliedruppel in een alkalische oplossing. Hier doet de

¹⁾ RHUMBLER, Ergebnisse Physiologie, 1914.

²⁾ QUINCKE, Ann. d. Physik. u. Chem., Neue Folge, 35, 580. (1888).

³⁾ BÜTSCHLI, Untersuchungen über microscopische Schäume und das Protoplasma. Leipzig (1892).

zeepvorming voortdurend de oppervlaktespanning veranderen en ziet men beweging van den oliedruppel. Uit deze proeven blijkt, dat de amoeboïde beweeglijkheid in hooge mate afhankelijk kan zijn van de omgevende vloeistof.

Verder is de gesteldheid van het protoplasma zelf van zeer grooten invloed op de beweeglijkheid. RYDER¹⁾ vestigde vooral de aandacht op het protoplasma zelf. Door veranderingen in het protoplasma zouden veranderingen in de oppervlaktespanning en daardoor vormveranderingen optreden.

LEO LOEB²⁾ verklaart de amoeboïde beweeglijkheid eveneens door protoplasmaveranderingen, gepaard gaande met oppervlaktespanningsveranderingen. Hij schrijft tevens aan de omgevende vloeistof grooten invloed toe; daardoor zou bv. de oppervlaktespanning dermate kunnen veranderen, dat twee cellen samenvloeien. Door de osmotische spanning in de omgevende vloeistof gradueel te veranderen, was het hem mogelijk, ook de amoeboïde beweeglijkheid gradueel te veranderen. Vloeistofopname door het protoplasma zou daarbij van grooten invloed zijn. Zoo vond hij, dat in een licht hypotonische KCl-oplossing als milieu, door het protoplasma veel water werd opgenomen en daardoor een groote vloeibaarheid van het protoplasma en groote beweeglijkheid optrad.

Van groot theoretisch belang voor deze theorieën zijn de studien van BÜTSCHLI over de schuimstructuur van het protoplasma, aan de hand waarvan vele processen zich veel gemakkelijker laten verklaren.

Vroeger werd de amoeboïde beweeglijkheid altijd onderzocht, door de voortbeweging na te gaan op een vaste onderlaag als b.v. glas, agar agar enz. Beter is het volgens DE HAAN³⁾, de vormveranderingen na te gaan in het vloeibaar milieu zelf, door op de aanwezigheid van uitloopers te letten, die gemakkelijk te fixeeren zijn.

FRIEDEMANN en SCHÖNFELD⁴⁾ en ook LEDINGHAM⁵⁾ vonden, dat alleen amoeboïde beweeglijkheid optrad in visceuze vloeistoffen. In

¹⁾ RYDER, geciteerd uit *Ergebnisse Physiologie*, 598 (1911).

²⁾ LEO LOEB, o.a. in *Science* 18 Maart 1921, bl. 261.

³⁾ l. c. bl. 110—112.

⁴⁾ l. c.

⁵⁾ LEDINGHAM, *Journ. of Hygiene*. Vol. XII, No. 3, p. 320.

tegenstelling hiermee werd in dit laboratorium door DE HAAN¹⁾ gevonden, dat zeer goed amoeboide beweeglijkheid mogelijk was in niet visceuze vloeistoffen. Een vereischte was dan, dat deze zeer sterk de samenstelling naderden van ultrafiltraat van bloedplasma. Wel waren ook colloïde stoffen speciaal serum, zeer bevorderlijk, zooals tevens uit de proeven van DE HAAN bleek.

Alles tezamen genomen komt men tot de conclusie, dat de amoeboide beweeglijkheid afhankelijk is van:

1. *de eigenschappen van het protoplasma,*
2. *de fysisch-chemische eigenschappen van het omringende milieu zooals; zuurgraad, osmotische spanning, viscositeit etc.*
3. *de temperatuur* (beneden een zeker minium bestaat geen beweeglijkheid).

Chemotaxis.

Wanneer we van de niet specifieke amoeboide beweeglijkheid overgaan op de speciaal gerichte amoeboide beweeglijkheid, zooals die tot uiting komt bij de emigratie, vinden we tot verklaring van dit verschijnsel telkens weer het begrip chemotaxis terug, d. w. z. de aantrekkende werking op protoplasma, uitgeoefend door bepaalde chemische stoffen.

Er bestaat reeds een uitgebreide literatuur over chemotactische of chemotrope invloeden op de beweging van lagere diersoorten en eencellige wezens.

Bekend is de chemotactische aantrekkingskracht van een vrouwelijke vlinder op de mannelijke exemplaren, waar alleen vluchtige stoffen, uitgaande van de vrouwelijke vlinder, invloed uitgeoefend kunnen hebben.

Bekend zijn verder de proeven van ENGELMANN, die gebruik maakte van de gevoeligheid van sommige bacterien en infusorien voor zuurstof

¹⁾ l. c.

om te bepalen, op welke plaats van het spectrum, chlorophylhoudende organismen het meeste zuurstof afscheiden.

PFEFFER¹⁾ toonde aan, dat de spermatozoën van varens, aangetrokken worden door appelzuur en appeltzure zouten en die van sommige mossen door rietsuikeroplossingen.

GARREY²⁾ deed onderzoekingen bij *Chilomonas* door middel van anorganische verdunde zuren en zouten. Hierbij was de werking meestal negatief-chemotactisch; bij organische zuren als melkzuur, azijnzuur en boterzuur was de chemotactische werking in geringe hoeveelheden positief en in grootere negatief.

BARROWS³⁾ deed onderzoekingen over de *Drosophila*, die zich ontwikkelt op fermenteerende vruchten. Hij bewees, dat de insecten positief-chemotactisch zijn voor aethyl en amyloalcohol, melkzuur en aether. Esthers als methylacetaat en isobutylalcohol versterken de werking van alcohol.

MASSART en BORDET⁴⁾ onderzochten met de methode van PFEFFER den invloed van bacteriën op de beweging van witte bloedlichaampjes. Buisjes met culturen van *staphylococcus pyogenes aureus* in de buikholte van een kikvorsch gebracht, bleken later veel leucocyten te bevatten, terwijl contrôlebuisjes daarzonder ingebracht, leeg bleken te zijn.

HAMBURGER⁵⁾ bracht buisjes met verschillende chemische stoffen onder de huid van konijnen en kon vooral een specifieke werking van calcium aantonen.

In nauw verband met *chomotaxis* moet *galvanotaxis* staan; de electrische en chemische processen staan immers in een innige relatie tot elkaar.

De fraaie onderzoekingen van LUDLOFF⁶⁾ en anderen hebben aangetoond, dat het pantoffeldiertje (*paramaecium*) en andere meer samengestelde

1) PFEFFER, Untersuch. a. d. Bot. Inst. Tübingen, Bnd. 1, 1884, bl. 364, Bnd. 2, 1888, bl. 582.

2) GARREY, Amer. Journ. Physiol., Vol. 3 (1900) p. 291, 315.

3) BARROWS, Journ. exp. Zool., Vol. 4 (1907), p. 515.

4) MASSART en BORDET, Ref. Physiol. Ctbl. bnd 4 (1891) p. 332.

5) H. J. HAMBURGER, Archivio di Fisiologia. Vol. VII bl. 81 (1909).

6) LUDLOFF, Pflüg. Arch, Bnd 53 p. 493 (1893).

organismen zich door den galvanischen stroom laten bewegen. *Paramecium* richt zich steeds naar de kathode en zwemt daarheen.

Door HERMANN, BLASIUS, SCHWEIZER en J. LOEB¹⁾ werd aangetoond, dat analoge richtingsverschijnselen bij hogere dieren het gevolg zijn van een bepaalde inwerking van den stroom op het centrale zenuwstelsel.

Sommige andere dieren gaan naar de anode en onder zekere omstandigheden is de richting van beweging omkeerbaar. Aan BANCROFT²⁾ gelukte het, door het Ca-gehalte van het proefobject te wijzigen, door toevoeging van Na-oxalaat, koolzuur, phosphorzuur of sulfaat, *paramecium* in plaats van naar de kathode, naar de anode te laten gaan.

Een groot deel der genoemde organismen is echter zoo samengesteld van bouw, dat men hieruit niet zonder meer conclusies kan trekken voor de beweging van witte bloedlichaampjes.

Van meer gewicht zijn de proeven van HÖBER³⁾ over *kataphorese* van roode bloedlichaampjes in isotonische suikeroplossingen. HÖBER vond nu, dat de bloedlichaampjes onder normale omstandigheden zich steeds naar de positieve pool bewegen, dus negatief geladen zijn. Deze bewegingsrichting is geheel te vergelijken met de beweging van levenloze deeltjes in suspensies onder den invloed van den electrischen stroom, zooals kool, kaoline enz. Afhankelijk van de lading dezer deeltjes, bewegen ze zich in den stroom, of naar de kathode (de eigenlijke kataphorese bij positief geladen deeltjes) of naar de anode (deeltjes negatief geladen). Evenals bij amphotere electrolyten is bij deze bloedlichaampjes door toevoeging van zuur en van bepaalde driewaardige kationen de lading om te keeren.

Interessant zijn ook de waarnemingen van VERWORN⁴⁾ bij amoeben. Hij vond een uitvloeijing van hyaline protoplasma in de richting van de kathode. Aan de anodezijde had een samentrekking plaats, zoodat de amoebe zich naar de kathode begaf als gevolg van een zoogenaamde poolwerking. Bij verandering van stroomrichting herstelde zich de toestand eerst en trad daarna een uitlooper op in de richting van de nieuwe kathode.

¹⁾ Geciteerd uit J. LOEB, *Forced movements etc.* Editie Lippencott.

²⁾ BANCROFT, *Journ. of Physiol.* Vol. 34 p. 444 (1906).

³⁾ HÖBER, *Arch. f. d. ges. Physiol.* 101, 627 (1904). 102, 196 (1904).

⁴⁾ VERWORN, *Arch. ges. Physiol.* XLV, 1—36 (1889), XLVI, 261—303 (1890).

Wanneer wij nu deze beschouwingen op het uittreden van witte bloedlichaampjes willen toepassen, kunnen wij vooreerst vaststellen, dat witte bloedlichaampjes, zoowel de gegranuleerde als de niet gegranuleerde, amoeboïde beweging bezitten. Verder is van de gegranuleerde cellen bekend, dat ze zeer goed op een geschikten ondergrond kunnen kruipen.

Reeds in 1824 constateerde DUTROCHET gevolgd in 1846 door WALLER het uittreden uit den vaatwand van witte bloedlichaampjes door diapedesis.

COHNHEIM zag eveneens het doortreden door den vaatwand in het mesenterium van den kikvorsch. Hij zag ook de leucocyten door den vaatwand treden bij een kunstmatig opgewekte ontsteking.

METCHNIKOFF plaatste dit verschijnsel in het ware licht. Vroeger waren bij infecties, buiten den vaatwand wel leucocytenophoopingën gevonden, maar werd daaraan geen waarde toegekend. METCHNIKOFF gaf een goede verklaring van de beteekenis van de aanwezigheid der leucocyten, door den nadruk te leggen op de verdedigende rol door de leucocyten gespeeld bij infecties en andere schadelijke invloeden.

Het uittreden van de polynucleaire leucocyten wordt tegenwoordig door iedereen toegegeven, maar het doortreden door den vaatwand van lymphocyten wordt, ofschoon de amoeboïde beweeglijkheid zooals we zagen, niet meer ontkend kan worden, nog door velen betwijfeld. Daar-tegenover staat, dat vele onderzoekers, zoowel de amoeboïde beweeglijkheid als het doortreden door den vaatwand hebben geconstateerd. Zij leggen echter den nadruk op een goede fixatie van de te onderzoeken praeparaten. Bij kunstmatig verwekken van exsudaten hebben o. a. ALMKVIST, PRÖSCHER, SCHWARZ en WOLFF ze in het exsudaat gevonden, terwijl MAXIMOW en SCHRIDDE ze tevens in den vaatwand zagen op het oogenblik van doortreden.

Ik behoef hier evenwel op deze vraag niet weer uitvoerig in te gaan, omdat we in het vorige hoofdstuk hebben gezien, dat aan de eigenlijke exsudaatvorming, de lymphocyten uit het bloed practisch niet deelnemen.

Wanneer wij nu de emigratie van zoowel gegranuleerde als

niet gegranuleerde cellen als vaststaande aannemen, dan moet de vraag gesteld worden, door welke kracht deze leucocyten uit de bloedbaan gedreven worden. Den bloeddruk hiervoor verantwoordelijk te stellen, gaat niet op. Dan moesten immers evengoed de roode bloedlichaampjes uittreden, wat niet dan bij hooge uitzondering het geval is bij abnormale doorlaatbaarheid van den vaatwand.

In hoeverre kunnen hier de zooeven besproken chemotaxis of galvanotaxis (kataphoresis) ter verklaring worden gebruikt? De emigratie bij infecties doet de verklaring aan de hand, dat bacterieproducten door hun chemische eigenschappen aantrekkelijk zouden werken op de leucocyten. Dit zal ook wel het geval zijn, maar de toestand is daar zoo gecompliceerd, dat het voorloopig wel niet zal gelukken, daar bepaalde chemische stoffen voor het lokken der leucocyten verantwoordelijk te stellen.

Een gelukkige omstandigheid is echter, dat men geen infectie noodig heeft, om exsudaten te verwekken. Even goed slaagt men er in door verschillende chemische stoffen zooals terpentijn, eiwitten, amyllum enz., zoogenaamde steriele exsudaten te verwekken.

Om nu op mijn eigen onderzoekingen over te gaan:

Bij de reeds besproken proeven, door mij ingesteld, bleek, dat door *alle ingespoten stoffen, electrolyten en niet-electrolyten. serum enz. een steriel exsudaat werd opgewekt.*

Uit alles wat hierboven is aangehaald, is het duidelijk, dat niet van een chemotaxis kan gesproken worden als oorzaak van de emigratie der polynucleaire leucocyten. Onverschillig wat voor vloeistof men inspuit, electrolyt, niet-electrolyt, olie, paraffine, ultrafiltraat van serum of serum, steeds komt dezelfde reactie. Het zou ongerijmd zijn, aan al deze stoffen eenzelfde chemotactische werking toe te kennen; immers dan zouden

alle stoffen polynucleaire leucocyten aantrekken en hiermee vervalt dan vanzelf het begrip chemotaxis, dus aantrekking door specifieke chemische eigenschappen en ten overvloede de specifiek chemotactische werking van eiwitstoffen op polynucleaire leucocyten en van vetten op mononucleaire leucocyten. Dit is reeds uitvoerig in een vorig hoofdstuk betoogd.

Wanneer wij het resultaat samenvatten voor zoover betreft de polynucleaire leucocyten, dan blijkt, dat bij alle stoffen na een zeer korten tijd (ongeveer één uur) emigratie van polynucleaire leucocyten optreedt. Het doet er niet toe, welke vloeistof wordt ingespoten, altijd treedt dezelfde reactie op.

Reeds in het vorige hoofdstuk heb ik er op gewezen, dat door deze proeven de meening wordt weerlegd van BÜRGER en DOLD, welke onderzoekers de emigratie, zooals we zagen, verklaarden door de werking van eiwitafbraakproducten. Steriel soorteigen serum zou niet worden afgebroken en dus ook geen aanleiding geven tot emigratie. Zij baseeren deze meening op proeven, waarbij naast andere stoffen, ook steriel soorteigen serum werd ingespoten in het kniegewricht van een konijn. In het laatste geval trad geen of zeer weinig emigratie van leucocyten op. Dit resultaat is, zooals we zagen, met mijn resultaten geheel in strijd. Dit behoeft evenwel niet te verwonderen. De proefneming van BÜRGER en DOLD is voor het aantoonen geheel ongeschikt; immers het ingespoten serum is op het oogenblik van onderzoek reeds weer geheel geresorbeerd en daar de onderzoekers de mate van emigratie afmeten aan den celrijktom van de vloeistof, die ze kunnen uitpipetteren, concludeeren ze geheel ten onrechte tot de afwezigheid van cellen, omdat ze geen vloeistof verkregen.

Met het begrip chemotaxis ter verklaring van de amoeboïde bewegelijkheid, komen we dus niet verder.

Een tweede factor, die door FRIEDEMANN en SCHÖNFELD ter verklaring van de emigratie in het geding is gebracht, is de *viscositeit* van de vloeistof en wel op grond van de beteekeenis, welke volgens hunne onderzoekingen, de viscositeit van het milieu heeft voor het tot stand komen van amoeboide bewegingen. DE HAAN heeft reeds aangetoond, dat FRIEDEMANN en SCHÖNFELD hier met hun eigen proeven in tegenspraak komen en dat bij de exudaatvorming in de buikholte van het konijn, van een invloed van viscositeit niets te bemerken valt.

In de laatste jaren is, in de lijn van de besproken verschijnselen van *galvanotaxis* en *kataphoresis*, getracht uit de aanwezigheid van een *potentiaalverschil*, het ontstaan van de emigratie te verklaren. SCHWYZER¹⁾ pleit voor deze verklaring. Het positief geladen bloed zou zijn positieve witte bloedlichaampjes zien uittreden door aantrekking van de zijde van den vaatwand, wiens negatieve lading onder den invloed van de ontstekingsprocessen versterkt is. Door de verhoogde OH-concentratie van den vaatwand zou de amoeboide beweeglijkheid verhoogd worden en de pseudopodien in de richting van het potentiaalverschil groeien. Dit zou in overeenstemming zijn met wat VERWORN vond bij amoeben.

DE HAAN is ook geneigd, aan een potentiaalverschil een groote beteekeenis toe te kennen. Waar mijn eigen proeven ook in de richting van deze verklaring voerden, zal ik gelegenheid hebben, nog nader op de niet altijd juiste bewijsvoering van SCHWYZER ter staving van zijn meening, in te gaan.

Mijn eigen proeven, ten doel hebbende, verder door te dringen in de verklaring van het emigratieverschijnsel, hadden hun

¹⁾ SCHWYZER, Bioch. Zeitschr. LX 5/6, bl. 454.

uitgangspunt daar, waar we zooals we zagen, met de chemotaxis op het doode punt waren aangekomen.

Er was gebleken, dat chemotaxis' van bepaalde stoffen niet verantwoordelijk moet gesteld worden voor de emigratie van de polynucleaire leucocyten. Hiervoor moet dus een andere oorzaak aanwezig zijn. Daar alle stoffen, onverschillig welke, aanleiding zijn tot die emigratie, moet men wel aannemen, dat er door werkingen van het lichaam zelf een constante telkens weer optredende verandering in de ingebrachte vloeistof wordt teweeggebracht, die de emigratie veroorzaakt. Ik heb toen getracht in de ingespoten vloeistof, welke deze ook was, een dergelijke constante factor op te sporen. Deze proeven gaven een positief resultaat en zullen uitvoerig in dit hoofdstuk worden besproken tegelijk met de proeven van verklaring, waartoe deze feiten de mogelijkheid openen.

2. ONDERZOEKINGEN NAAR HET VERBAND TUSSCHEN DE CHEMISCHE EIGENSCHAPPEN VAN DE INGESPOTEN VLOEISTOF EN DE EMIGRATIE.

Door vroegere onderzoekers werden insputtingen in de buikholte vooral verricht met het doel, het verloop van de resorptie van de ingespoten vloeistof na te gaan. Aan de veranderingen, die de vloeistof tijdens de resorptie zelf onderging, werd over het algemeen weinig aandacht geschonken.

Nadat MAGENDIE vooral op de rol der bloedvaten bij de resorptie uit de buikholte had gewezen, werd langen tijd een verkeerde theorie gehuldigd, dat namelijk de lymphbanen voor de resorptie van het in de buik aanwezige vocht zouden zorgen. Dit is toe te schrijven aan de ontdekking van de zuig- en perspompwerking van het diaphragma door

VON RECKLINGHAUSEN¹⁾ en aan LUDWIG en SCHWEIGGER-SEIDELL²⁾, die het lymphbanenstelsel voor pleura, fascien enz. duidelijk aantoonde. Daardoor werd te veel gewicht gehecht aan de lymphcirculatie. Eerst door de onderzoeken van HAMBURGER³⁾, STARLING en TUBBY⁴⁾, HEIDENHAIN⁵⁾ en anderen werd afdoende bewezen, dat door de bloedvaten verreweg het grootste deel wordt geresorbeerd.

Door de onderzoeken van HAMBURGER³⁾ werd aangetoond, dat een met het bloed isotonische vloeistof in de buikholte ingespoten, voortdurend daarmee isotonisch bleef, terwijl een hypertonische of een hypotonische vloeistof na korter of langer tijd, altijd binnen 2 uren, isotonisch werd met het bloed. Hieruit blijkt, dat er snel een osmotisch evenwicht optreedt.

Verder werd door HAMBURGER³⁾ melding gemaakt van het optreden van allerlei stoffen in het ingespoten vocht, door wisselwerking met het bloed en de weefselvochten. Wanneer bijv. NaCl werd ingespoten, vindt men na zekeren tijd in het buikvocht naast keukenzout, phosphaten en carbonaten van Na, K, Ca en Mg en tevens eiwit. Hij geeft aan, dat hiervan geen verdere nauwkeurige bepalingen bestaan.

Het proces van uitwisseling tusschen het buikvocht aan de eene zijde en het bloed en weefselvocht aan de andere kant is zeer samengesteld. Alleurlei krachten komen hiervoor in aanmerking. Deze worden door HAMBURGER als volgt samengevat:

1) v. RECKLINGHAUSEN, Virchow's Arch. 22, bl. 163 (1852).

2) LUDWIG en SCHWEIGGER-SEIDELL, Ber. d. Sächs. Ges. d. Wissensch. (1866).

3) H. J. HAMBURGER, Arch. für (Anat. u.) Physiol., bl. 281 (1895), en Osmot. Druck u. Ionenlehre, deel II.

4) STARLING en TUBBY, Journ. of Physiol., 14, p. 140 (1894).

5) HEIDENHAIN, Pflüg. Arch., 62, bl. 320 (1895).

de osmotische spanningen der verschillende vochten, die
naar een osmotisch evenwicht streven,
de filtratiedruk van het arterieele bloed,
de diffusie der chemische stoffen.

Onderzoek op Cl, Ca, glucose en eiwitstoffen.

Om een inzicht te krijgen in de wijze, waarop vloeistoffen na inspuiting in de buikholte, langzamerhand in samenstelling veranderen om tenslotte tot de vrijwel constante exsudaatvloeistof te worden, werd door mij een reeks van onderzoeken gedaan met allerlei met het bloed isotonische vloeistoffen zooals NaCl 0.9 ‰, Na₂SO₄ 2 aq. 3.2 ‰, glucose 4.15 ‰, rietsuiker 8 ‰ en serum en verder met paraffinum liquidum en oleum olivarum. Daar het onderzoek te uitgebreid en te tijdrovend zou worden, als op alle bestanddeelen zou worden gereageerd, werden als te onderzoeken stoffen gekozen *eiwit, chloor, calcium* en in enkele gevallen *glucose*.

Het *eiwitgehalte* werd en *refractometrisch* en volgens de *methode van ESBACH* bepaald,

het *Cl-gehalte* volgens de methode van VOLHARD,

het *Ca-gehalte* volgens de methode van D. DE WAARD¹⁾,

het *glucosegehalte* volgens de methode van IVAR BANG.

Het eerst werd met NaCl 0.9 ‰ ingespoten en op verschillende tijdstippen de samenstelling van het exsudaat bepaald. In de tabellen XXXVI en XXXVII worden hiervan voorbeelden gegeven.

¹⁾ D. DE WAARD. Biochem. Zeitschr. Bnd 97 bl. 176 en 186 (1919).

TABEL XXXVI.

Analyse van het exsudaat na intraperitoneale injectie van 200 cM³.
NaCl 0.9% op verschillende tijdpunten na de injectie.

Onderzochte stof.	brekings-index.	eiwit in procenten	Cl. p. cM ³ in milli-grammen.	Ca. p. cM ³ in milli-grammen.	glucose per cM ³ . in milli-grammen.
Serum van het het proefdier .	1.3459	—	3.5	0.1320	
Transsudaat van het proefdier . .	1.3403	2.52	3.5	0.1080	
Ingespoten NaCl 0.9%	—	—	5.43	0	0
Exsudaat na 1/2 uur	1.3344	—	4.116	0.0548	0.55
Exsudaat na 1 uur	1.3345	—	3.5	0.0776	1.645

TABEL XXXVII.

Analyse van het exsudaat na intraperitoneale injectie van 200 cM³.
NaCl 0.9% op verschillende tijdpunten na de injectie.

Onderzochte stof.	brekings-index.	eiwit in procenten	Cl. p. cM ³ in milli-grammen.	Ca. p. cM ³ in milli-grammen.	glucose per cM ³ . in milli-grammen.
Serum van het proefdier	1.3454	—	3.682	0.1236	
Transsudaat van het proefdier . .	1.3393	—	3.68	0.1020	
Ingespoten NaCl 0.9%	—	—	5.43	0	0
Exsudaat na 1/2 uur	1.3343	—	5.25	0.0366	0.580
„ „ 1 uur	1.3345	—	4.62	0.0588	1.903
„ „ 1 1/2 uur	1.3352	—	4.55	0.0675	1.580
„ 18 uur	1.3381	—	3.68	0.094	

Daarna werd met Na_2SO_4 3.2 % en met glucose 4.15 % en rietsuiker 8 % ingespoten en het resultaat overzichtelijk gemaakt in tabel XXXVIII tot en met XLIII. Deze vloeistoffen hadden het voordeel, dat zij chloorvrij waren.

TABEL XXXVIII.

Analyse van het exsudaat na intraperitoneale injectie van 250 cm^3 . glucose-oplossing 4.15 % op verschillende tijdpunten na de injectie.

Onderzochte stof.	brekings-index.	eiwit in procenten.	Cl per cm^3 . in milli-grammen.	Ca per cm^3 . in milli-grammen.
Serum van het proefdier	1.3454	—	3.682	0.1236
Transsudaat van het proefdier	1.3399	—	3.6	0.1020
Exsudaat na $\frac{1}{2}$ uur .	1.3377	—	1.12	—
„ „ 1 uur .	1.3370	—	1.68	0.0407
„ „ $1\frac{1}{2}$ uur	1.3364	—	2.38	0.0612

TABEL XXXIX.

Analyse van het exsudaat na intraperitoneale injectie van 250 cm^3 . glucose-oplossing 4.15 % op verschillende tijdpunten na de injectie.

Onderzochte stof.	brekings-index.	eiwit in procenten.	Cl per cm^3 . in milli-grammen.	Ca per cm^3 . in milli-grammen.
Serum van het proefdier	1.3459	—	3.6	
Exsudaat na $\frac{1}{2}$ uur .	—	0.264	1.624	0.0298
„ „ 1 uur .	—	0.396	2.59	0.05315
„ „ $1\frac{1}{2}$ uur .	—	0.440	2.828	0.05930

TABEL XL.

Analyse van het exsudaat na intraperitoneale injectie van 250 cM³. glucose-oplossing 4.15 % op verschillende tijdpunten na de injectie.

Onderzochte stof.	brekings-index.	eiwit in procenten.	Cl per cM ³ . in milli-grammen.	Ca per cM ³ . in milli-grammen.
Serum van het proefdier	1.3462	—	3.696	0.1320
Transsudaat van het proefdier	1.3402	—	—	—
Exsudaat na 1/2 uur.	—	—	—	—
„ „ 1 uur.	—	0.6	2.480	0.0522
„ „ 1 1/2 uur.	—	0.89	2.660	0.0590

TABEL XLI.

Analyse van het exsudaat na intraperitoneale injectie van 200 cM³. Na₂SO₄ 2 aq. 3.2 % op verschillende tijdstippen na de injectie.

Onderzochte stof.	eiwit in procenten	Cl per cM ³ . in milli-grammen.	Ca per cM ³ . in milli-grammen.	glucose per cM ³ . in milli-grammen.
Serum van het proefdier	—	3.64	0.1291	
Transsudaat van het proefdier	—	—	0.1080	
Exsudaat na 1/2 uur.	—	1.26	0.0215	0.57
„ „ 1 uur.	—	1.932	0.0402	0.90
„ „ 1 1/2 uur.	—	2.268	0.0594	1.47

TABEL XLII.

Analyse van het exsudaat na intraperitoneale injectie van 250 cM³.
Na₂SO₄ 2 aq. 3.2 0/0 op verschillende tijdpunten na de injectie.

Onderzochte stof.	eiwit in procenten.	Cl per cM ³ . in milli- grammen.	Ca per cM ³ . in milli- grammen.	glucose per cM ³ . in milli- grammen.
Serum van het proef- dier	—	3.68	0.1236	
Transsudaat van het proefdier	—	3.68	0.1070	
Exsudaat na 1/2 uur .	0.205	1.064	0.0244	
„ „ 1 uur .	0.245	1.82	0.0510	
„ „ 1 1/2 uur .	0.500	2.52	0.0708	

TABEL XLIII.

Analyse van het exsudaat na intraperitoneale injectie van 250 cM³.
Na₂SO₄ 2 aq. 3.2 0/0 op verschillende tijdstippen na de injectie.

Onderzochte stof.	eiwit in procenten.	Cl per cM ³ . in milli- grammen.	Ca per cM ³ . in milli- grammen.	glucose per cM ³ . in milli- grammen.
Serum van het proef- dier	—	3.66	0.1320	
Transsudaat van het proefdier	—	3.64	0.1100	
Exsudaat na 1/2 uur .	—	1.722	0.0497	0.13
„ „ 1 uur .	0.6	2.666	0.0770	1.26
„ „ 1 1/2 uur .	1.2	3.046	0.0850	2.3

Bij alle vloeistoffen vindt het verloop van de uitwisseling van zouten en andere stoffen op overeenkomstige wijze plaats. Na $1\frac{1}{2}$ uur is het suikergehalte reeds vrijwel gelijk aan dat van het bloedplasma, voor zoover geen glucose werd ingespoten. Het chloorgehalte blijft bij dat van het bloed nog iets ten achter in de gevallen, waar glucose en natriumsulfaat werd ingespoten, terwijl bij insputing van NaCl 0.9 % na $1\frac{1}{2}$ uur reeds vrijwel het Cl gehalte is gedaald tot de hoeveelheid in serum. Het toestroomen van het calcium gaat op dezelfde wijze als van chloor, maar blijft daarbij eenigszins tenachter. Alleen het eiwit treedt veel langzamer op; immers in verreweg de meeste gevallen is het eiwit na $1\frac{1}{2}$ uur nog slechts tot $\frac{1}{2}$ % gestegen, terwijl in het normale buikvocht het gehalte ongeveer 2 % bedraagt.

Verder blijkt ook nog, dat er enkele konijnen zijn, waar het intreden van het diffusieevenwicht duidelijk sneller plaats heeft en reeds na $1\frac{1}{2}$ uur bijna de evenwichtstoestand is bereikt ook voor eiwit (zie tabel XLIII).

Wanneer we nu 3 tot 4 uren na de insputing, de samenstelling van de vloeistof wederom onderzoeken, dan blijkt het chloorgehalte ook bij andere stoffen dan keukenzout reeds zijn normale waarde voor buikvocht bereikt te hebben en ook het eiwitgehalte neemt verder niet veel meer toe. Ook de kalk heeft dan ongeveer de voor weefselvocht gevonden waarde bereikt.

Opgemerkt zal worden, dat het kalkgehalte van het normale transsudaat bij dat van het serum ten achter staat. Dit kan mijns inziens daarop worden teruggebracht, dat zooals bekend (zie RONA en TAKAHASHI¹⁾), een aanmerkelijk deel van de bloedkalk gebonden is aan eiwit en dit gebonden gedeelte

¹⁾ RONA en TAKAHASHI, Biochem. Zeitschr., Bnd. 49, bl. 370 (1913).

voor het serum ongeveer 40⁰/₀ bedraagt. In het buikvocht met zijn lage eiwitgehalte moet dus noodwendig het kalkgehalte ook lager uitvallen. Het schijnbare achterblijven van calcium ten opzichte van chloor in het exsudaat, vindt ook hierin een gereedelijke verklaring.

Ten slotte kan nog opgemerkt worden, dat het eiwitgehalte oogenschijnlijk gedurende de eerste 1½ uur veel langzamer toeneemt als daarna. Dit berust waarschijnlijk op de in omgekeerden zin werkende vochtresorptie.

Om nu verder de snelheid van eiwitresorptie te bepalen, werd ook de snelheid van verandering nagegaan, die optrad na het inspuiten van soorteigen serum, eveneens een stof, die sterke emigratie gaf.

Er werd bij een konijn op twee achtereenvolgende dagen soorteigen serum ingespoten en na één week nog eens. Het resultaat is vermeld in tabel XLIV.

Na het inspuiten van serum krijgt dus, wat het eiwitgehalte aangaat, de ingespoten vloeistof veel langzamer het karakter van het normale transsudaat. In 3 à 4 uren is de concentratie van de eiwitoplossing van een breking van 1.3460 tot 1.3437 gedaald en den volgenden dag van 1.3451 tot 1.3441 of uitgedrukt in eiwit, van 5.82⁰/₀ tot 4.39⁰/₀ en 4.6⁰/₀ en later van 5.3⁰/₀ tot 4.39⁰/₀ eiwit. Toch blijkt hieruit, zooals ook wel bekend is, dat ingespoten serum niet onveranderd in de buikholte aanwezig blijft, zooals men zou kunnen verwachten, wanneer men alleen met krachten als diffusie en osmose bij de resorptie rekening houdt.

Uit deze laatste proef blijkt, dat of eiwit afgebroken wordt in de buikholte en weggevoerd, of dat door toevloeiing van een minder geconcentreerde eiwitoplossing de vloeistof wordt verdund en dat verder dit mengsel wordt geresorbeerd.

TABEL XLIV.

Analyse van het exsudaat na intraperitoneale injecties van 100 cM³.
soorteigen serum op verschillende tijdstippen na de injectie.

Datum.	uur.	Onderzochte stof.	brekings-index.	Opmerkingen.
8 Juni	10 uur	serum van het proefdier.	1.3458	
	„ „	ingebracht serum.	1.3460	injectie.
	„ „	transsudaat v. h. proefdier.	1.3393	
	1 „	exsudaat na 3 uur.	1.3437	
9 Juni	10 uur	ingebracht serum.	1.3451	injectie.
	2 „	exsudaat na 4 uur.	1.3441	
14 Juni	10 uur	transsudaat.	1.3400	
	„ „	ingebracht serum	1.3451	injectie.
	2 „	exsudaat na 4 uur.	1.3437	

Tot nu toe werden steeds vloeistoffen ingespoten, die zich vermengden met de door het bloed en de weefsels aan het ingespoten vocht afgestane bestanddeelen. Volledigheidshalve werd nu ook het exsudaat onderzocht, dat optreedt na inspuiting van indifferente vloeistoffen, die zooals we gezien hebben, ook aanleiding gaven tot een leucocytenexsudaat nl. paraffinum liquidum en oleum olivarum. De waterige vloeistof, die bij de afname, van deze stoffen kon worden gescheiden, kon in dit geval worden beschouwd als te geven het zuivere beeld van de toegestroomde vloeistof. Het op verschillende tijden opgevangen vocht werd gecentrifugeerd en de bovendrijvende paraffine of olie verwijderd. Met de overgebleven vloeistof werden de bepalingen gedaan, waarvan het resultaat is vermeld in tabellen XLV tot en met XLIX.

TABEL XLV.

Analyse van het exsudaat na intraperitoneale injectie van 100 cM³.
paraffinum liquidum op verschillende tijdstippen na de injectie.

Onderzochte stof.	brekings- index.	eiwit in procenten.	Cl per cM ³ . in milli- grammen.	Ca per cM ³ . in milli- grammen.
Serum van het proef- dier	1.3466	6.78	3.64	0.1306
Transsudaat van het proefdier	1.3390	1.82	3.64	0.1040
Exsudaat na 1/2 uur .	1.3394	1.843	3.5	
„ „ 1 uur .	1.3394	1.843	3.5	0.0540
„ „ 1 1/2 uur .	1.3396	1.854	3.5	0.0880

TABEL XLVI.

Analyse van het exsudaat na intraperitoneale injectie van 100 cM³.
paraffinum liquidum.

Onderzochte stof.	brekings- index.	eiwit in procenten.	Cl per cM ³ . in milli- grammen.	Ca per cM ³ . in milli- grammen.
Serum van het proef- dier	1.3449	—	3.5	0.1380
Transsudaat van het proefdier	1.3392	—	—	0.1060
Exsudaat na 1 dag .	1.3408	—	3.5	0.0770

TABEL XLVII.

Analyse van het exsudaat na intraperitoneale injectie van 100 cM³.
paraffinum liquidum.

Onderzochte stof.	brekings- index.	eiwit in procenten.	Cl per cM ³ . in milli- grammen.	Ca per cM ³ . in milli- grammen.
Serum van het proef- dier	1.3450	—	—	0.1390
Transsudaat van het proefdier	1.3398	—	—	0.1080
Exsudaat na 1 dag .	1.3434	—	—	0.0800

TABEL XLVIII.

Analyse van het exsudaat na intraperitoneale injectie van 100 cM³.
oleum olivarum op verschillende tijdstippen na de injectie.

Onderzochte stof.	brekingsindex.	Ca per cM ³ . in milligrammen.
Serum van het proefdier . . .	1.3450	0.1460
Transsudaat van het proefdier	1.3390	0.112
Exsudaat na 1/2 uur	1.3391	
„ „ 1 uur	1.3391	
„ „ 1 1/2 uur	1.3391	0.0625

TABEL XLIX.

Analyse van het exsudaat na intraperitoneale injectie van 100 cM³.
oleum olivarum.

Onderzochte stof.	brekingsindex.	Ca per cM ³ . in milligrammen.
Serum van het proefdier . . .	1.3458	0.1360
Transsudaat van het proefdier	1.3395	0.1050
Exsudaat na 5 uren	1.3420	0.0800

Uit deze proeven van inspuitingen vooral met paraffine en olijfolie blijkt, dat er hier een invloeiing van een bepaalde constant blijvende vloeistof in de buikholte plaats heeft. Deze nadert bijna steeds vrij dicht de samenstelling van een normaal transsudaat. Het eiwitgehalte is hieraan gelijk; wat echter verschilt, is het calciumgehalte. Dit verschilt aanmerkelijk met het normaal aanwezige transsudaat. Terwijl in normaal transsudaat per cm^3 0.1 tot 0.11 milligram calcium voorkomt, is dit niet het geval bij een exsudaat door oleum olivarum of paraffinum liquidum verwekt, hoewel het eiwitgehalte en het chloorgehalte gelijk zijn aan dat van normaal transsudaat. Een reden voor dit afwijkende Ca-gehalte heb ik niet kunnen vinden. De afwijking is het meest opmerkelijk in enkele gevallen, waar na inspuiting van paraffine of olie, bij uitzondering het eiwitgehalte van de instroomende vloeistof vrijwel gelijk was aan dat van serum, dus zeer hoog. Ook hier was het Ca-gehalte opmerkelijk lager.

Alles tezamen genomen zien we dus, dat de ingebrachte vloeistof, die eerst in alle opzichten sterk afweek van de normale weefselvochten, in korten tijd zoodanig verandert, dat ze in chemisch opzicht slechts weinig meer verschilt van de normale vloeistof van de buikholte; een uitzondering alleen vormt serum, wat het eiwitgehalte betreft.

Waar we hier dus een snel terugkeeren van het gestoorde evenwicht constateeren, valt het moeilijk om een bepaalde afwijking in chemisch opzicht aan te wijzen, die in aanmerking zou kunnen komen als oorzaak voor het uittreden der witte bloedlichaampjes.

De H-ionenconcentratie in de ingespoten vloeistof.

Er is nu evenwel nog een factor buiten beschouwing gebleven, die toch voor verschillende levensprocessen, blijkens

onderzoekingen van de latere jaren, in het voorafgaand overzicht gedeeltelijk aangehaald, een zeer belangrijke rol toekomt, nl. de concentratie der waterstofionen, dus de *zuurgraad*.

Het leek mij niet van belang ontbloot, bij het onderzoek naar de eigenschappen, welke het ingespoten vocht verkrijgt, ook te voegen een onderzoek naar het verloop van de *H-ionen-concentratie* in de ingespoten vloeistof op verschillende tijdstippen na de inspuiting.

De eenvoudigste wijze om met voldoende graad van nauwkeurigheid de concentratie der H-ionen te bepalen, is wel door middel van de *indicatorenmethode*, zooals die in de latere jaren tot ontwikkeling is gebracht. De indicatorenmethode is het eerst uitvoerig uitgewerkt door FRIEDENTHAL¹⁾ en SALM²⁾ en verder vooral volmaakt door SÖRENSEN³⁾. Op de theorie der indicatoren van WILHELM OSTWALD⁴⁾ zal ik hier niet ingaan.

SÖRENSEN⁵⁾ bracht orde in den chaos van indicatoren door een groote reeks van onderzoekingen, waarbij tegelijk colorimetrische en electrometrische bepalingen van de H-ionenconcentratie werden gedaan. Hij stelde een lijst samen van verbeterde indicatoren. Hieraan kleefden echter ook nog zeer veel fouten, zooals hij zelf aangeeft. Zij zijn slechts onder bepaalde omstandigheden te gebruiken. Vele, bijvoorbeeld die van de methylgroep, zijn zeer gevoelig voor neutrale zouten. De meeste zijn geheel onbruikbaar bij aanwezigheid van proteïnen en eiwitafbraakproducten.

Door CLARK en LUBS⁶⁾ werd door gelijktijdig electrometrisch

1) FRIEDENTHAL, Zeitschr. f. Electrochem. 8, 113, (1904).

2) SALM, Zeitschr. f. physikal. Chemie, 57, 471, (1906).

3) SÖRENSEN, Bioch. Zeitschr. 21, 131 (1909).

4) W. OSTWALD, o.a. Lehrbuch der allgemeinen Chemie, 1, 799.

5) SÖRENSEN, Biochem. Zeitschr. 21, 221—255, (1909).

6) l. c.

en colorometrisch onderzoek, een lijst van verbeterde indicatoren samengesteld van de *sulfon-phthaleingroep*, waaraan zeer weinig fouten kleven. Met behulp van deze is het mogelijk geworden op een zeer snelle en tevens betrouwbare wijze den zuurgraad te bepalen.

Gebruikt werden zoodanige indicatoren, die niet gevoelig waren voor eiwit of zouten d.w.z. bij aanwezigheid daarvan geen verandering in kleursomslag geven. Daardoor werd het omslachtige procédé van dialyse vermeden, zooals dat o.a. door DALE en EVANS¹⁾ wordt aangegeven ter bepaling van de H-ionenconcentratie in bloed met behulp van neutraalrood.

Voor mijn doel waren het meest geschikt *phenolrood* en *cresolrood*, die een zeer duidelijke kleursomslag hebben tusschen $p^H = 7$ ²⁾ en 8 en vrijwel ongevoelig zijn voor eiwit en zouten.

De waarden door mij verkregen door onderzoek met indicatoren van den zuurgraad van verschillende vloeistoffen zooals bloedserum en normaal buiktranssudaat, verschillen alle 0.2 van die van andere onderzoekers, maar komen overeen met die van EVANS³⁾ en ROSS⁴⁾.

Terwijl nog overal in de literatuur voor bloedserum een p^H opgegeven wordt van 7.36 tot 7.4, vinden EVANS en ROSS een p^H van 7.55 tot 7.6, door middel van de indicatorenmethode, in het dialysaat. De lagere waarden zijn alle electrometrisch

¹⁾ DALE en EVANS, The Journ. of Physiol. **54** bl. 167.

²⁾ De p^H of waterstofexponent stelt voor de negatieve logarithme van het aantal H-ionen, dat een liter van een zekere vloeistof bevat. Dit aantal grammen wordt de H-ionenconcentratie genoemd. Dus $p^H = 7$ beteekent, dat er 10^{-7} grammen H-ionen in een liter voorkomen. Men moet dus wel in het oog houden, dat bij deze aanduidingswijze een hooger getal voor p^H een lagere zuurgraad beteekent.

³⁾ C. LOVATT EVANS, The Journ. of Physiol. **54** bl. 353.

⁴⁾ ROSS, The Journ. of Physiol. **54**. Proc. Physiol. soc. p. LXXX.

bepaald. Hierin schuilt volgens EVANS de oorzaak van het verschil. Door de katalytische werking van platinazwart zou aan de elektroden koolzuur worden omgezet tot mierenzuur. Deze verklaring klinkt zeer aannemelijk, daar in niet carbonaat-houdende vloeistoffen gelijkheid bestaat voor colorometrische en electrometrische bepalingen.

Wanneer men de p^H berekent uit de formule van HASSELBALCH¹⁾, maakt men dezelfde fout als bij de electrometrische bepaling, daar de dissociatieconstante eveneens electrometrisch wordt bepaald.

Bepalingen werden gedaan met serum van veneus bloed, waarmee zoo weinig mogelijk was gemanipuleerd, om koolzuurverlies te voorkomen en met normaal buiktranssudaat. Het resultaat is neergelegd in tabel L.

TABEL L.

Bepalingen van de H-ionenconcentratie, uitgedrukt in de exponent (p^H) door middel van indicatoren, in serum en buiktranssudaat.

De onderzochte vloeistof.	p^H bepaald door phenolrood.	p^H bepaald door cresolrood.
Serum v. veneus bloed v. konijn I	tusschen 7.5 en 7.6	7.6
Hetzelfde met lucht geschud .	7.6+	7.6+
Buiktranssudaat van konijn I. .	7.6	7.6
Serum v. veneus bloed v. konijn II	tusschen 7.5 en 7.6	tusschen 7.5 en 7.6
Buiktranssudaat " " "	7.6	7.6
Serum v. veneus bloed v. konijn III	7.6	7.6
Buiktranssudaat " " "	7.6	7.6

Later werd door mij nog herhaaldelijk de zuurgraad van serum en het normaal aanwezige transsudaat van de buikholte onderzocht en steeds was de reactie van serum iets kleiner dan 7.6 en die van normaal transsudaat 7.6. Deze waarden

¹⁾ HASSELBACH, Biochem. Zeitschr., Bnd. 78, bl. 112 (1917).

komen dus zeer goed overeen met die, welke in de literatuur bekend zijn, behalve dat er steeds een verschil bestaat van 0.2 wat door EVANS is verklaard.

Nadat dus de betrouwbaarheid der indicatoren was gebleken voor de stoffen, die ik hiermee wilde onderzoeken, werd overgegaan tot de bepaling van de p^H van verschillende exsudaatvochten. Tot dit doel werden bij verschillende konijnen vloeistoffen in de buikholte gebracht. Op bepaalde tijden werd een bepaalde hoeveelheid vocht uit de buikholte afgetapt en opgevangen onder paraffine om koolzuurverlies te voorkomen. Daarna werd de indicator bijgevoegd en de zuurgraad bepaald.

Ingespoten werd met oplossingen van NaCl 0.9 %, glucose 4.15 % en fosphaatmengsels van SÖRENSEN. De beide eerste vloeistoffen waren zuurder of alkalischer dan 7.6, al naar mate gedestilleerd of leidingwater was gebruikt voor oplossing. Het verloop van de veranderingen in den zuurgraad wordt verduidelijkt door tabel LI tot en met LIV.

Uit deze tabellen blijkt, dat de reactie van het ingebrachte vocht zuurder wordt als de p^H grooter is dan 7.2 en dat de reactie alkalischer wordt als de p^H kleiner is dan 7.2.

Hieruit blijkt, dat onafhankelijk van de reactie van het ingespoten vocht, de vloeistof na korten tijd een zeer bepaalde reactie krijgt, die niet onbelangrijk afwijkt van de normale reactie van het buikvocht en dat die afwijkende p^H gedurende verscheidene uren zich op dezelfde hoogte handhaaft. Een dag na de inspuiting is evenwel de normale toestand teruggekeerd.

De opmerking zou kunnen worden gemaakt, dat de mogelijkheid bestaat, dat ook de reactie van het bloedserum tijdens de inspuiting verandert. Dit is niet het geval, zooals ik meer malen kon constateeren en zooals ook blijkt uit tabel LII.

TABEL LI.

Bepaling van de H-ionenconcentratie, uitgedrukt in de exponent (p^H), door middel van indicatoren in een steriel exsudaat, verwekt door het intraperitoneaal inspuiten van 200 cm^3 . NaCl 0.9 %₀, op verschillende tijdstippen na de injectie.

De onderzochte vloeistof.	p^H bepaald door phenolrood.	p^H bepaald door cresolrood.
Serum van het proefdier	tusschen 7.5 en 7.6	7.6
Buiktranssudaat v. h. proefdier	7.6	7.6+
Ingespoten NaCl oplossing	7.6	7.6
Exsudaat na 15 minuten	7.3	7.3
„ „ 30 „	7.2	7.2+
„ „ 60 „	7.2	7.2
„ „ 2 uren	7.2	7.2
„ „ 3 „	7.2	7.2
„ „ 4 „	7.2	7.2
„ „ 1 dag	7.6	7.6

TABEL LII.

Bepaling van de H-ionenconcentratie, uitgedrukt in de exponent (p^H), door middel van phenolrood in steriele exsudaten bij twee konijnen, verwekt door het intraperitoneaal inspuiten van 200 cm^3 . NaCl 0.9 % met verschillende H-ionenconcentratie, op verschillende tijdstippen na de injectie.

De onderzochte vloeistof.	Konijn 4.	Konijn 5.
Serum van de proefdieren	7.5—7.6	7.5—7.6
Buiktranssudaat v. d. proefdieren	7.6	7.6
Ingespoten vloeistof	8	6
Exsudaat na 15 minuten	7.5	6.8
„ „ 30 „	7.3	7
„ „ 60 „	7.2	7.2
„ „ 2 uren	7.2	7.2
„ „ 18 „	7.5—7.6	7.6
Serum 2 uur na de injectie	7.5—7.6	7.5—7.6

TABEL LIII.

Bepaling van het H-ionenconcentratie, uitgedrukt in de exponent (p^H), door middel van phenolrood in een steriel exsudaat, verwekt door het intraperitoneaal inspuiten van 200 cm^3 4.15% glucose-oplossing, op verschillende tijdstippen na de injectie.

De onderzochte stof.	p^H bepaald door phenolrood.
Serum van het proefdier	7.5 < 7.6
Buiktranssudaat van het proefdier	7.6
Ingespoten vloeistof	6
Exsudaat na 15 minuten	6.6
„ „ 30 „	7
„ „ 45 „	7.2
„ „ 60 „	7.2
„ „ 90 „	7.2
„ „ 3 uren	7.2
„ „ 1 dag	7.6

TABEL LIV.

Bepaling van de H-ionenconcentratie, uitgedrukt in de exponent (p^H), door middel van phenolrood in een steriel exsudaat, verwekt door het intraperitoneaal inspuiten van 250 cm^3 Na_2HPO_4 2 aq, 1.74%, op verschillende tijdstippen na de injectie.

Onderzochte vloeistof.	p^H bepaald door phenolrood.
Serum van het proefdier	7.5—7.6
Buiktranssudaat van het proefdier	7.6
De ingespoten vloeistof	9.182
Exsudaat na 10 minuten	8.2
„ „ 15 „	7.6
„ „ 20 „	7.4
„ „ 30 „	7.3
„ „ 45 „	7.2

Met inspuitingen van oleum olivarum en paraffinum liquidum was ik ook instaat dezelfde veranderingen van den zuurgraad aan te toonen, maar de hoeveelheid vocht is niet groot genoeg om opeenvolgende bepalingen te doen. Op verschillende tijden afgenomen vocht, dat van de olie of paraffine afgecentrifugeerd moest worden, had steeds een p^H van 7.2, zelfs bij een konijn (zie pag. 83), waar 2 weken na een olieinjectie een groot exsudaat was opgetreden, werd een vloeistof afgetapt met een p^H van 7.2; het vocht, dat nog weer 14 dagen later werd afgetapt, had eveneens een p^H van 7.2. Herhaaldelijk kon ik in andere gevallen na een week in het exsudaat nog een p^H van 7.2 tot 7.3 constateeren, zoowel na paraffine- als olieinspuitingen.

Behalve paraffine en olie heb ik nog in het onderzoek betrokken serum, zoowel soorteigen als vreemd, hetwelk zooals we vroeger zagen, eveneens een zeer sterke emigratie bewerkt. Men zou à priori kunnen denken, dat bij een dergelijke volmaakt gebufferde vloeistof, die wordt ingebracht met een p^H gelijk aan die van het normale buikvocht, er geen aanleiding is, dezelfde verandering in p^H te verwachten als in de reeds besproken gevallen. Uit een der bovengenoemde tabellen blijkt evenwel, dat van ongeveer neutrale, goed gebufferde zoutoplossingen, na inspuiting toch de p^H snel terugloopt en hetzelfde bleek nu ook voor serum het geval te zijn, zooals uit de tabel blijkt. Het hier ingebrachte serum was verkregen door aan verschillende konijnen zooveel bloed te ontnemen, dat na stolling 175 cc. helder, niet haemolytisch serum werd verkregen, dat bij het onderzochte konijn werd ingespoten. Het verloop van de zuurgraad blijkt uit tabel LV.

Uit deze proeven blijkt dus, dat welke vreemde stof ook wordt ingespoten in de buikholte, mits in voldoende hoeveelheid, steeds na verloop van tijd de reactie zuurder wordt dan die van het

TABEL LV.

Bepaling van de H-ionenconcentratie, uitgedrukt in de exponent (p^H), door middel van indicatoren, in een steriel exsudaat verwekt door het intraperitoneaal inspuiten van 175 cM³ steriel soorteigen serum, op verschillende tijdstippen na de injectie.

De onderzochte vloeistof.	p^H bepaald door phenolrood.	p^H bepaald door cresolrood.
Serum van het proefdier	7.6	7.6
Buiktranssudaat v. h. proefdier	7.6	7.6
Het ingebrachte serum	7.6	7.6
Exsudaat na 30 minuten	7.4	7.4
" " 45 "	7.3 à 7.4	7.3 à 7.4
" " 75 "	7.2	7.2 à 7.3
" " 105 "	7.2	7.2+

normale bloed en van het normaal aanwezige transsudaat. Voor de verschillende stoffen bestaat alleen verschil in den tijd daartoe benodigd. Keukenzout en glucoseoplossing laten zich veel vlugger beïnvloeden dan natriumphosfaat en serum. Dit behoeft ons niet te verwonderen, daar in het laatste geval de vloeistof zoodanig gebufferd is, dat een zelfde hoeveelheid van een of andere stof, die voor de verandering van p^H verantwoordelijk mocht zijn, hier veel minder effect heeft dan in de niet gebufferde oplossingen zooals NaCl en glucose.

We moeten ons nu de vraag stellen, op welke wijze we de verhoogde zuurgraad in de exsudaatvloeistof tot een constante waarde, kunnen verklaren.

Voor zoover de ingespoten vloeistof in zijn samenstelling belangrijk afwijkt van het bloedvocht b.v. keukenzout en glucoseoplossing, zal een deel van de stoffen, die door diffusie

uit het bloed toestroomen, de H-ionenconcentratie in het ingespoten vocht veranderen b.v. H_2CO_3 . We zouden dan evenwel verwachten, dat deze verandering zoo ver zou gaan, dat er een p^{H} zou ontstaan wederom gelijk aan het bloed, zooals ook met de aanwezige zouten het geval was. Waar dit niet het geval is, moeten wij voor de afwijkende p^{H} de oorzaak zoeken op de plaats van het exsudaat zelf n.l. daarin, *dat op deze plaats zelf een zuurvorming plaats grijpt, die door diffusie niet snel genoeg met het bloed in evenwicht kan komen, zoodat een verhoogde p^{H} het diffusieevenwicht aangeeft.*

De zuurvorming zou directe productie van CO_2 kunnen zijn. Dit is opzichzelf minder waarschijnlijk, omdat de koolzuurproductie normaal altijd in de weefsels plaats heeft en toch niet aanleiding geeft tot een verhoogde p^{H} . Men zou zich evenwel kunnen voorstellen, dat onder deze abnormale omstandigheden de productie verhoogd was en tegelijk misschien bij den verlangzaamden bloedstroom een merkbare verlangzaming in den afvoer van dit CO_2 zou bestaan. Een gevolg hiervan zou dan moeten zijn, een verhoogde koolzuurspanning ten opzichte van die, welke normaal in de weefsels gevonden wordt. Om over het bestaan hiervan te kunnen oordeelen, heb ik in een aantal exsudaatvloeistoffen, van verschillende injectievloeistoffen afkomstig, koolzuurspanningen bepaald gedurende den tijd, dat de p^{H} duidelijk verlaagd was.

Voor injectie werden gebruikt NaCl 0.9, glucoseoplossing, Ringer's oplossing, serum enz.. $1\frac{1}{2}$ à 2 uur na de injectie, wanneer verwacht kon worden, dat de p^{H} op ± 7.2 was gekomen (gecontroleerd door phenolrood), werd een gedeelte van het buikvocht opgevangen in een *tonometer*, zooals door KROGH¹⁾

¹⁾ A. KROGH, Handbuch der Biochem. Arbeitsmeth. Abderhalden VIII, blz. 495 (1915).

is aangegeven volgens het principe van een injectiespuit, waarin vervolgens een kleine luchtbel werd gezogen en zorg werd gedragen, dat zoo weinig mogelijk CO_2 door diffusie verloren kon gaan.

Eerst werd de tonometer in een thermostaat op een temperatuur van 37°C . gehouden, terwijl later de geheele proefneming in de warme kamer werd verricht in een temperatuur van 37°C .

De koolzuurspanning werd vervolgens bepaald door de luchtbel, nadat deze in evenwicht was gekomen met de vloeistof, in een microgasanalyseapparaat van KROGH¹⁾ over te brengen. Ook hierbij werden zooveel doenlijk voorzorgen genomen tegen koolzuurverlies. Toch zullen er altijd iets te lage waarden worden gevonden, zooals KROGH ook zelf aangeeft.

Met inachtname van de waterdampspanning en den barometerdruk werd uit het koolzuurvolumen, de koolzuurspanning in mM kwik berekend. Er werden waarden gevonden van 49.6, 46.7, 49.7, 48.8, 51.8, 49, 48.6, 47.4, 48.3, 47 en 54.1 mM kwikdruk.

Er bestaat hier dus een hoogere koolzuurspanning dan voor het arterieele en ook voor het veneuse bloed wordt opgegeven, evenwel is de koolzuurspanning niet hoger dan die in het algemeen aan de weefsels wordt toegekend. Een *verhoogde koolzuurspanning kan dus niet de reden zijn voor de hoogere H-ionenconcentratie*. Nu kan in het bloed en in andere lichaamsvloeistoffen de concentratie der H-ionen automatisch slechts binnen beperkte grenzen schommelen; dit is in hoofdzaak te danken aan de aanwezigheid van NaHCO_3 en daarnaast in geringe mate aan andere zoogenaamde bufferstoffen, zooals vooral door de onderzoekingen van HENDERSON²⁾ is aangetoond.

¹⁾ I. c.

²⁾ L. J. HENDERSON, Harvey Lectures X, 132, (1915), J. P. Lippencott.

Voegen we aan bloed buiten het lichaam zuur toe, dan zal het NaHCO_3 als zwak alkali het toegevoegde zuur binden en als gevolg daarvan de toename van het aantal H-ionen en de afname van de alkaliteit beperkt zijn. Verhooging van de koolzuurspanning, die in een vloeistof zonder bufferwerking, ondanks het feit, dat koolzuur slechts een zwak zuur is, toch de H-ionenconcentratie snel doet toenemen, heeft in een bicarbonaathoudende vloeistof slechts zeer weinig effect. Er bestaat tusschen bicarbonaat, koolzuur en waterstofionen een evenwicht, hetwelk men kan uitdrukken door de chemische vergelijking

$$H = K \times \frac{\text{H}_2\text{CO}_3}{\text{HCO}_3}, \text{ waarin } K \text{ een constante is.}$$

Hieruit valt af te leiden, dat als de H-ionenconcentratie toeneemt, gelijktijdig altijd de hoeveelheid vrij koolzuur toeneemt. Dit vindt zijn uitdrukking in het bekende verschijnsel, dat door toevoeging van zuren, koolzuur uit het bicarbonaat wordt vrijgemaakt.

Bij zuurvorming in het lichaam, zal dus primair de koolzuurspanning in het bloed toenemen, maar dit wordt meer dan gecompenseerd door de verwijdering ervan door de vermeerderde ademhaling, die hiervan het gevolg is. Voortdurend bestaat dus de neiging om het bicarbonaatgehalte, het zoogenaamde reservealkali neer te drukken, maar dit houdt zich normaal steeds op gelijke hoogte, daar naast de zuurvorming een compenseerende vorming van bases optreedt.

Nu bestaan evenwel, zooals algemeen bekend, toestanden van *acidosis*, van zoo groote *zuurvorming*, dat de hoeveelheid reservealkali zeer sterk vermindert zonder dat, dank zij de ventilatie van de longen, de koolzuurspanning in het bloed toeneemt. Ook de zuurgraad neemt, zoolang het reservealkali niet is opgebruikt, slechts in geringe mate toe. Deze toestand

van acidosis is dus geruimen tijd vrijwel alleen te herkennen aan de vermindering van de hoeveelheid reservealkali.

Op een overeenkomstig verschijnsel moet m. i. ook de beperkte toename in H-ionen berusten, die we in ons exsudaat aantreffen. Door de een of andere oorzaak blijft hier de normale compensatie uit; we krijgen als resultaat van de weefselstofwisseling de abnormaal sterke vorming van een of meer zuren, die het reservealkali in het weefselvocht gedeeltelijk verbruiken en daarbij de H-ionenconcentratie in beperkte mate verhoogden; de verhoogde koolzuurspanning, welke hiervan het gevolg zou moeten zijn, is hier dan, waarschijnlijk door voldoende diffusie naar de omgeving, weer gecompenseerd.

Hoewel ik nog geen gelegenheid heb gehad, deze verklaring te toetsen door bepaling van het reservealkaligehalte in de exsudaatvloeistof, wil het mij toeschijnen, dat er geen andere verklaringsmogelijkheid bestaat. Ophooping van koolzuur als uitsluitende oorzaak immers, zou tot uiting moeten komen in een verhoogde koolzuurspanning.

We moeten dus aannemen een *locale acidosis*, overeenkomende met de acidosis in het bloed bij ziekten zooals diabetes. Onverschillig of de ingespoten vloeistof bij het inbrengen reeds was gebufferd (serum, ultrafitraat), dan wel of ze door toevloeien van carbonaten naderhand bufferstoffen krijgt, het effect zal steeds hetzelfde zijn, omdat ten slotte de zuurproductie altijd zal werken op een gebufferde vloeistof en dus slechts een beperkt effect zal kunnen hebben.

Door het bepalen van de p^H in het exsudaat is dus gebleken, dat door inspuiten in de buikholte van al deze stoffen, een vocht ontstaat, dat een reactie heeft veel zuurder dan die van het bloed. Terwijl de p^H van het bloedserum door indicatoren

bepaald, op ± 7.6 moet gesteld worden, bleek mij, dat het exsudaat een p^H had van 7.2. Er bestaat dus *een verschil in p^H van 0.3 à 0.4.*

Uit mijn proeven was tevens gebleken, dat door het inspuiten van dezelfde stoffen, emigratie van polynucleaire leucocyten optrad. Er bestaat nu alle aanleiding, om die steeds voorkomende emigratie in verband te brengen met dit constante verschijnsel van de veranderde p^H , dat hoe uiteenlopend de geïnjecteerde vloeistoffen ook zijn, eveneens altijd wordt teruggevonden. Dit is de eenige evenwichtstoornis, die ontstaat en gehandhaafd blijft gedurende verscheidene uren, terwijl de andere eerst aanwezige verschillen met de normale toestand alle worden opgeheven. Het ligt dus voor de hand, *het verschil in H-ionenconcentratie van het exsudaat met het bloed, in verband te brengen met de emigratie der leucocyten.*

3. HET VERBAND TUSSEN H-IONENCONCENTRATIE EN EMIGRATIE.

We kunnen de vraag stellen, *in hoeverre deze afwijkende H-ionenconcentratie direct de emigratie kan veroorzaken.* Ik heb getracht deze vraag op die wijze op te lossen, dat bij de ingebrachte vloeistof, op kunstmatige wijze door herhaalde alkalitoevoeging, het zuurworden der vloeistof verhinderd werd. Door vergelijking met op de gewone wijze behandelde konijnen werd dan onderzocht, of hierbij de emigratie van leucocyten uitbleef. Daartoe werden door mij proeven genomen eerst met konijnen, die reeds herhaaldelijk een exsudaat geleverd hadden met overvloedige emigratie van leucocyten. Hierbij werd voor injectievloeistof een 4.15 % glucoseoplossing genomen, door

NaOH op een p^H van ± 8 gebracht. Bij deze vloeistof werd phenolrood als indicator gevoegd in de voorgeschreven hoeveelheid en zoo kon ieder oogenblik zeer snel de reactie gecontroleerd worden. Naderde de p^H tot 7.6, dan werd een gedeelte van de buikinhoud ontledigd en nieuwe vloeistof met een goede p^H toegevoegd. In het begin werd de reactie zeer snel zuur, zoodat toen een oogenblik de p^H iets beneden 7.6 kan geweest zijn.

Het resultaat was, dat 750 cc. glucoseoplossing gebruikt werd voor de inspuiting, de verversching en het naspoelen der buikholte. Er werd na $1\frac{1}{2}$ uur 500 cc. vocht teruggewonnen, waarin na centrifugeeren slechts een gering bodembeslag ontstond. Bij onderzoek bleek dit 65 % mononucleaire en 35 % polynucleaire leucocyten te bevatten. Het totaalvolume bedroeg 0.00625 cc., waarvan volgens de berekening hoogstens 0.001 cc. polynucleaire leucocyten geweest kunnen zijn, een zeer klein bedrag voor een konijn, dat herhaaldelijk reusachtige hoeveelheden polynucleaire leucocyten had gegeven.

Als controleproefdier werd een konijn gebruikt, dat evenals het eerste nog voor kort was ingespoten. Er werd een voorzorgsmaatregel genomen, die bij het eerste konijn was verzuimd. Om na te gaan, zulks met het oog op een kort geleden inspuiting, of de buikholte nog polynucleaire leucocyten bevatte (zie ook blz. 17), werd n.l. vooruit de buikholte uitgespoeld met een zelfde glucoseoplossing als later voor injectie werd gebruikt. Uit de uitgespoelde vloeistof werd door centrifugeeren een bodembeslag van leucocyten neergeslagen van 0.016 cc., waarvan polynucleaire leucocyten 8 % en mononucleaire leucocyten 92 % en dus volgens berekening 0.0005 cc. polynucleaire leucocyten. Dit bedrag komt zeer dicht bij dat van de eerste proef, vooral als men bedenkt, dat daar de

buikholte veel zorgvuldiger is nagespoeld. Trekt men bij het eerste konijn dit bedrag van 0.0005, af van 0,001, dan blijft er slechts een gering bedrag over voor leucocyten, die door emigratie in de buikholte gekomen zouden zijn nl. 0.0005 cc.

Wat nu het controlekonijn betreft, werd 1½ uur na de inspuiting van de 4.15 % glucoseoplossing, deze weer afgetapt en de buikholte nagespoeld. Het aflopende vocht had een p^H van 7.2. Het bodembeslag bevatte 0.1 cc. leucocyten waarvan: polynucleaire leucocyten 70 % en mononucleaire leucocyten 30 % dus: polynucleaire leucocyten 0.035 cc. en mononucleaire leuc. 0.065 cc. Vergelijkt men de waarden met elkaar van de hoeveelheid polynucleaire leucocyten, verkregen bij de eerste inspuiting en bij de tweede, dan vindt men bij de eerste inspuiting 0.001 cc. en bij de tweede 0.035 cc. polynucleaire leucocyten, dus in het eerste geval minder dan 3 % van het tweede. Trekt men echter het aantal polynucleaire leucocyten af, dat bij de eerste proef waarschijnlijk reeds aanwezig was, dan bedraagt het aantal geëmigreerde polynucleaire leucocyten in het eerste geval slechts 1 à 2 % van dat in het tweede geval. Men kan dus wel zeggen, *dat er zoo goed als geen emigratie heeft plaats gehad ten gevolge van het neutraal houden van de ingespoten vloeistof.*

Het was evenwel noodig deze proeven te herhalen met konijnen, waarbij men niet de kans liep, dat er nog polynucleaire leucocyten in de buikholte aanwezig waren; normaal komen deze nooit in de buikholte van het konijn voor (zie hoofdstuk I).

De proef werd herhaald met 2 konijnen, die nog nooit een inspuiting in de buikholte hadden gehad. Als injectievloeistof werd nu $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{aq}$ 1.84 % genomen met een p^H van ± 9 . Bij het eerste konijn stroomde bij punctie van de buikholte een transsudaat af, dat alleen mononucleaire leucocyten bevatte.

Daarna werd de fosphaatoplossing, vermengd met de benodigde hoeveelheid phenolrood als indicator, in de buikholte gebracht. Door voortdurend laten toelopen van deze vloeistof, voor zoover de zuurgraad dat vorderde, werd de p^H constant boven 7.6 gehouden. In het geheel werd 750 c.c. vloeistof verbruikt en 500 c.c. teruggewonnen. Deze vloeistof werd in een citraatoplossing opgevangen en afgecentrifugeerd. Het bodembeslag door haematokriten gemeten, bevatte 0.01 c.c. vormelementen, waarvan 50 $\frac{0}{0}$ mononucleaire leucocyten en 50 $\frac{0}{0}$ roode bloedlichaampjes en verder 1 polynucleaire leucocyt op ongeveer 700 roode bloedlichaampjes, overeenkomende met de verhouding in het bloed. Er is dus door emigratie geen enkele polynucleaire leucocyt in het exsudaat gekomen.

Het contrôledier, welks transsudaat eveneens geen polynucleaire cellen bevatte, werd met 250 c.c. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{aq}$ 1.84 $\frac{0}{0}$ ingespoten en gaf na $1\frac{1}{2}$ uur een hoeveelheid witte bloedlichaampjes van 0.01 c.c., waarvan polynucleaire leucocyten 50 $\frac{0}{0}$ en mononucleaire leucocyten eveneens 50 $\frac{0}{0}$, dus polynucleaire leucocyten 0.0028 c.c.

Bij een derde proef werd bij het eerste konijn 200 cc. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{aq}$ 0.9 $\frac{0}{0}$, NaCl. 0.45 $\frac{0}{0}$ ingespoten en de p^H voortdurend grooter dan 7.6 gehouden. Na $1\frac{1}{2}$ uur werd de buikholte leeggespoeld en de totale hoeveelheid leucocyten bepaald op 0.002 cc., waarvan polynucleaire leucocyten 10 $\frac{0}{0}$ en mononucleaire leucocyten 90 $\frac{0}{0}$. Het volume der polynucleaire leucocyten is dus 0.00008 cc.

Bij het controledier werd dezelfde vloeistof ingespoten en na $1\frac{1}{2}$ uur weer door spoelen verwijderd. Het totaalvolume leucocyten bedroeg 0.05 cc., waarvan waren polynucleaire leucocyten 40 $\frac{0}{0}$ en mononucleaire leucocyten 60 $\frac{0}{0}$. Er waren dus 0.011 cc. polynucleaire leucocyten. Waar bij het proefkonijn

slechts 0.00008 cc. polynucleaire leucocyten waren uitgetreden, bedroeg dit nog niet 1 % van dat van het controledier.

Opgemerkt kan nog worden, dat het voortdurend neutraal houden van de ingebrachte vloeistof in vele gevallen door het proefdier slecht verdragen wordt. In de tweede der genoemde proeven stierf zelfs het konijn twee uur na het einde der proef.

Uit deze serie proeven blijkt, dat de zuurgraad van het exsudaat wel degelijk de reden is van het emigreeren van de polynucleaire leucocyten. Houdt men de zuurgraad op dezelfde hoogte van het bloed, dan treden er geen polynucleaire leucocyten uit, waaruit onomstootelijk bewezen wordt, dat de zuurgraad de reden moet zijn; de overige omstandigheden zijn immers alle dezelfde gebleven.

Uit wat vroeger aangehaald is over de onderzoekingen bij Chilomonas door GARREY, was vroeger al gebleken, dat zuren zeer goed instaat zijn, een aantrekkende of afstootende werking uit te oefenen, al naar mate de concentratie van het zuur. Het is de vraag of daar, waar schijnbaar een chemotactische werking van specifieke zuren aanwezig is, (zie de aangehaalde onderzoekingen van PFEFFER) ook niet bij nauwkeuriger onderzoek, de concentratie der H-ionen de werkzame factor zou blijken te zijn.

Potentiaalverschil veroorzaakt door verschil in H-ionenconcentratie.

Wij moeten ons nu afvragen, op welke wijze dit vastgestelde verschil in H-ionenconcentratie de emigratie kan teweeg brengen. Wij hebben vroeger gezien, dat de bloedlichaampjes zich door den galvanischen stroom naar de positieve pool laten bewegen.

Ik heb nu getracht potentiaalverschillen aan te toonen tusschen twee vloeistoffen met als eenigste verschil, de H-ionenconcentratie.

tratie. Daarvoor werd gebruik gemaakt van zoogenaamde *Ölketten*, die uitvoerig beschreven zijn door BEUTNER¹⁾.

Sinds GALVANI voor het eerst het bestaan van electromotorische kracht in dierlijk weefsel ontdekte, is door zeer veel onderzoekers gepoogd, van dit merkwaardige verschijnsel een rationeele verklaring te geven, door het te vergelijken met bekende bronnen van potentiaalverschil. Van veel belang voor de ontwikkeling van de kennis der electriche stroomingen is de membraantheorie van OSTWALD²⁾ geweest. Ofschoon de theoretische overwegingen van de *Ionenpermeabilitätstheorie* op tamelijk losse schroeven staan (NERNST, HABER, TAMMANN en WALDER³⁾) maken hierop terecht aanmerking), een feit is, dat er aan de membranen aanzienlijke electromotorische krachten optreden en tevens, dat de theorie van OSTWALD ons veel verder heeft gebracht.

NERNST⁴⁾ had reeds aangetoond, dat in nietwaterige oplossingen, door verschillende doorlaatbaarheid voor verschillende ionen, electromotorische krachten ontstaan. Of deze doorlaatbaarheid overeenkomt met grootere diffusiesnelheid, is nog niet uitgemaakt.

CREMER⁵⁾ stelde voor het eerst *biphasische ketenen* samen van electrolyten en een zoogenaamde *öl* (een met water niet mengbare stof). Deze *öl* neemt de plaats in van een membraan. Volgens BEUTNER⁶⁾ komt het op het zelfde neer, of een dierlijke membraan of een *öl* tusschen twee electrolyten geschakeld is. Op deze manier was hij instaat een goed oordeel over de membraanwerking te verkrijgen.

NERNST⁷⁾ stelde vast, dat de bekende naar hem genoemde wetten ook golden voor grenzen van waterige en niet waterige vloeistoffen.

HABER⁸⁾ toonde aan, dat men zonder metalen, alleen door electrolyten

¹⁾ R. BEUTNER, Die Entstehung electrischer Ströme in lebenden Geweben, etc. Uitgave Enke, Stuttgart, 1920.

²⁾ OSTWALD, Zeitschr. f. physikal. Chemie 6, 71, (1890).

³⁾ geciteerd uit BEUTNER „Die Entstehung enz.

⁴⁾ NERNST en RIESENFELD, Annalen der Physik, 8, 600 en 609 (1892).

⁵⁾ CREMER, Zeitschr. f. Biologie 47, 1 (1906).

⁶⁾ l. c.

⁷⁾ NERNST, Zeitschr. f. physikal. Chemie 9, 140 (1902).

⁸⁾ HABER, Ann. d. Physik., 26, 947 (1908).

en zoogenaamde öle, ketenen kan opbouwen van aanzienlijke electromotorische kracht. CREMER en HABER verschillen aanmerkelijk over de verklaring van het verschijnsel. Terwijl CREMER de electromotorische kracht in de ölphase laat optreden en niet aan de phasengrenzen, zoekt HABER den oorsprong aan de phasengrenzen.

In elk geval blijkt, dat men doortusschenvoeging van een zoogenaamde öl tusschen twee electrolyten, in staat is een aanmerkelijk potentiaalverschil op te wekken.

HABER en KLEMENSIEWICZ ¹⁾ hebben een theorie opgesteld, waardoor aan de aciditeit van de weefselvuchten grooten invloed wordt toegekend op de phasengrenskrachten.

BEUTNER heeft een uitvoerige studie gemaakt over het ontstaan van elektrische stroomen in levende weefsels en de nabootsing daarvan, door organische stoffen als zoogenaamde ölphase in den concentratieketen op te nemen, in de plaats van levend weefsel. Hij verkreeg op deze manier resultaten, die geheel overeenkwamen met die van de proeven van HÖBER ²⁾. Evenals HÖBER nam hij in den concentratieketen op, aan de eene zijde van de ölphase een NaCl-oplossing van een bekende normaliteit en aan de andere zijde zouten van natrium zooals Na_2SO_4 , NaCl, NaBr, NaJ en NaCNS. Met *phenol* en *toluidin* als ölphase verkreeg hij dezelfde reeks van sterkte voor de electromotorische kracht. Eveneens nam hij tegenover NaCl, verbindingen van Cl met andere kationen zooals KCl, NaCl, BaCl_2 , CaCl_2 en MgCl_2 . Het resultaat was hier met *phenol* en *salicylaldehyd* als ölphase, dat er weer potentiaalverschillen werden gemeten, in dezelfde volgorde als HÖBER dat gedaan had met dierlijk weefsel als tusschenphase. Evenals bij verschillende zouten, werden potentiaalverschillen verkregen bij verschil in concentratie der zouten en bij verschil in zuurgraad der waterige fasen.

Naar aanleiding van deze bepalingen heb ik zelf eenige waarnemingen gedaan over de sterkte van het potentiaalverschil, dat op die wijze werd verkregen met vloeistoffen, welke kunstmatig op verschillende H-ionenconcentratie waren gebracht,

¹⁾ HABER en KLEMENSIEWICZ, Zeitschr. f. physikal. Chem., 67, 385 (1905).

²⁾ HÖBER, Pflüg. Arch. 106, 599, (1905).

ongeveer overeenkomende met het straks gevonden verschil in p^H en eveneens met vloeistoffen, zooals ik deze verkreeg uit de buikholte, tegenover serum.¹

Om te beginnen met deze laatste, was de proefinrichting als volgt; het exsudaat had een p^H van 7.2 en het serum van 7.6. Als öl gebruikte ik *benzaldehyd* en *benzylalcohol*. Het potentiaalverschil werd gemeten door den snaargalvanometer van EINTHOVEN met behulp van de compensatiemethode. Het resultaat blijkt uit tabel LVI.

TABEL LVI.

Te vergelijken waterige fasen.	Potentiaalverschillen bij de ölphasen.	
	Benzaldehyd.	Benzylalcohol.
Exsudaat $p^H=7.2$ tegen serum $p^H=7.6$	5 millivolt	1.5 millivolt
Exsudaat + HCl. $p^H=6.8$ tegen serum $p^H=7.6$	13 millivolt	—

Er blijkt dus een klein potentiaalverschil te bestaan.

Tevoren had ik gepoogd, volgens de methode van ROHONYI¹⁾ een potentiaalverschil te meten tusschen fosphaatmengsels met een verschillende p^H , door als tusschenphase een vochtige wollen draad te nemen. Hoewel de snaargalvanometer een zeer geringe uitslag gaf, was deze zoo klein, dat zij door compensatie niet te meten was.

Daarna nam ik als proefvloeistoffen, vloeistof van Ringer door koolzuur of luchtdoorleiding of door toevoeging van zuur of loog op de vereischte p^H gebracht. Als tusschenphase werd weer benzaldehyd en benzylalcohol gebruikt, waarin opgelost

¹⁾ ROHONYI, Biochem. Zeitschr. 66, bl. 248.

was *lecithine*, *lecithine* + *cholesterine* of *cholesterine*. Deze stoffen waren aan de tusschenphase toegevoegd, om hun invloed na te gaan op de stroomvorming. Uit tabel LVII blijkt hunne werking.

TABEL LVII.

Te vergelijken waterige phasen.		Potentiaal verschil bij de Ölphasen.			
		Benzaldehyd + lecithine.	Benzaldehyd + lecithine + cholesterine.	Benzaldehyd + cholestere- rine.	Benzyl- alcohol + lecithine.
Ringer	Ringer				
$p^H = 7.2$ tegen	$p^H = 7.6$	9 en 12 millivolt.	—	0 millivolt.	—
$p^H = 7$ tegen	$p^H = 8$	35 milli- volt.	13 milli- volt.	—	4 millivolt.

Opgemerkt dient te worden, dat de vloeistoffen slecht op een bepaalde p^H zijn te houden, als *lecithine* aan de tusschenphase is toegevoegd. De *lecithine*, die door mij werd gebruikt, maakt een oplossing vrij snel zuur. Leidingwater met een p^H van ± 8 , vertoonde vrij spoedig een p^H van 7 en daar beneden, wanneer daarin *lecithine* werd opgelost.

Het bleek, dat *lecithine* in de tusschenphase het potentiaalverschil aanzienlijk versterkte, terwijl *cholesterine* een verlagende invloed had op het potentiaalverschil, of liever met *cholesterine* alleen opgelost in de tusschenphase, trad geen stroom op. Deze eigenschap kan van het grootste gewicht zijn voor de lichaamshuishouding. Door de afwezigheid van *lecithine* en de aanwezigheid van *cholesterine* kan een orgaan geheel geïsoleerd worden. Dit schijnt zeer goed in overeenstemming te zijn met de bufferwerking, die *cholesterine* op *lecithine* uitoefent in het lichaam; immers de onderzoekingen

van BRINKMAN en VAN DAM¹⁾ over de haemolyse van roode bloedlichaampjes wijzen uit, dat roode bloedlichaampjes door lecithine alleen zeer spoedig haemolyseeren, wanneer niet een zekere hoeveelheid cholesterine, dat voor de isolatie der cellen zorgt, tevens aanwezig is.

Uit het vroeger besprokene hebben wij gezien, dat de zuurgraad van het exsudaat verantwoordelijk gesteld moet worden voor de emigratie der polynucleaire leucocyten. Wanneer we ons nu verder afvragen, op welke manier de emigratie der leucocyten verklaard moet worden uit de zure reactie van het exsudaat, dan ligt het voor de hand, het verschil in H-ionenconcentratie tusschen het vrijwel constante bloed en het exsudaat, daarvoor verantwoordelijk te stellen. Wij hebben immers gezien, dat de polynucleaire leucocyten zich door den galvanischen stroom naar de anode laten bewegen. We hebben verder gezien, dat een verschil in H-ionenconcentratie tusschen twee vloeistoffen in staat is vrij belangrijke potentiaalverschillen te geven, wanneer daartusschen levend weefsel of een zoogenaamde öl is geschakeld. Zulk een verhouding bestaat, wanneer vocht in de buikholte gebracht, een p^H verkrijgt van 7.2. Het lag dus voor de hand te probeeren, potentiaalverschillen te meten tusschen het exsudaat en het bloed.

Voor het bepalen van de potentiaalverschillen werd wederom gebruik gemaakt van den snaargalvanometer van EINTHOVEN, volgens de compensatiemethode. Als electroden werden genomen die van OKER—BLOM, waarvan de KCl door agar-KCl was vervangen, om het manoeuvreeren ermee te vereenvoudigen.

Allereerst werd bepaald het potentiaalverschil tusschen twee

¹⁾ l. c.

plaatsen onderhuids nl. aan den hals en aan den buik. De hals was 5 millivolt positief t.o. van den buik. Daarna werd bij een normaal konijn het potentiaalverschil bepaald tusschen het bloed in de vena jugularis externa en de buikholte. In een geval schommelde dit om 9 millivolt; in een ander geval van 3.5 tot 10.3 en 8.5 millivolt. Het bloed was in deze gevallen steeds positief ten opzichte van de buikholte.

Lastig was de bloedstolling in de vena jugularis; daarom werden langere elektroden gemaakt en de eene electrode tot in het rechter hart doorgeschoven, zoodat minder last van de stolling werd ondervonden. Het bloed was ook nu weer positief ten opzichte van de buikholte; achtereenvolgens werden potentiaalverschillen gemeten van 11, 8, 8.5, 10.5 en 6.5 millivolt. Toen de buikelectrode echter in de buurt van de maag werd gebracht, ontstond een potentiaalverschil in omgekeerde richting van 140 millivolt. Wanneer we naar de reden hiervan zoeken, komt in de allereerste plaats de zoutzuurafscheiding van de maag of de zure maaginhoud in aanmerking, om dit verschijnsel te verklaren. Het kwam mij daarom gewenscht voor, om een onderzoek in te stellen naar de potentiaalverschillen, die normaal in de buikholte voorkomen. Tot dit doel werden de beide elektroden in de buikholte gebracht. Geen belangrijke verschillen werden geconstateerd, tenzij men een electrode in de buurt van de maag bracht. De maagstreek was steeds positief ten opzichte van de andere deelen van de buikholte ± 50 millivolt. Voor controle werden de elektroden omgekeerd; toen ook bleek de maag voortdurend positief ten opzichte van de andere gedeelten van de buikholte geladen te zijn.

Daarna werd het potentiaalverschil bepaald tusschen het bloed, en het exsudaat in de buikholte van een konijn, dat 2 uren van te voren ingespoten was met 200 cc. NaCl 0.9 %.

De buikholte was positief ten opzichte van het bloed van 56 tot 80 millivolt; een tweede proef leverde een soortgelijk resultaat. Een uitvoeriger onderzoek is in wording.

Van groot belang is nu, of we de gevolgtrekkingen, die we hebben gemaakt voor het uittreden van leucocyten in steriele abscessen en exsudaten, ook in het algemeen mogen toepassen op elke verplaatsing van leucocyten door het lichaam bijv. op het uittreden van leucocyten in exsudaten van infectieusen oorsprong en op het uittreden, normaal en pathologisch, van de witte bloedlichaampjes uit het beenmerg in de bloedbaan. Wat het laatste betreft, kunnen we ons zeer goed voorstellen, dat de normale aanvulling van de polynucleaire cellen in het bloed vanuit het beenmerg eveneens tot stand komt onder den invloed van een potentiaalverschil tusschen beenmerg en bloed. Het zou nu eveneens denkbaar zijn, dat wanneer die toevoer uit het beenmerg abnormaal verloopt zooals in gevallen van *leukaemie*, er een stoornis is in de verhouding van de p^H tusschen het bloed en het beenmerg. Eveneens is het van belang te onderzoeken, waaraan het is toe te schrijven, dat bij heftige, vaak doodelijk verloopende infecties, het beenmerg niet reageert op den prikkel van de ontsteking, waarom geen leucocyten naar de plaats van de ontsteking worden gevoerd. Het is niet onmogelijk, dat een gemis aan potentiaalverschil tusschen beenmerg en bloed of tusschen beenmerg en ontstekingshaard, de emigratie van leucocyten onmogelijk maakt. Daarbij moet tevens in het oog gehouden worden, in hoeverre de verdeling in het lichaam van *lecithine* en *cholesterine* misschien van gewicht kan zijn voor het ontstaan van electrische stroomen; juist in den laatsten tijd is van verschillende zijde o. a. door BRINKMAN en VAN DAM ¹⁾ op de beteekenis van een

¹⁾ l. c.

juiste verhouding dezer stoffen voor verschillende functies van het lichaam geweest. We hebben immers vroeger gezien, dat cholesterine, toegevoegd aan een tusschenphase tusschen twee vloeistoffen met een verschillende H-ionenconcentratie, een dergelijke isolatie tot stand bracht, dat geen elektrische stroom ontstond. Een dergelijke isolator zou dus ook in het lichaam het optreden kunnen beletten van een elektrischen stroom.

Door de welwillende medewerking van de chirurgische en de medische kliniek, waarvoor ik hier mijn dank betuig, was ik in staat etter of exsudaat van acute ontstekingsprocessen aan een onderzoek te onderwerpen en te onderzoeken, in hoeverre de zuurgraad hier ook een rol speelt.

Naar analogie van wat we gezien hebben bij de steriele exsudaten, mogen we verwachten, dat in etter of exsudaten van ontstekingachtigen aard, waarin overwegend polynucleaire leucocyten voorkomen, een p^H zal bestaan, die belangrijk kleiner is dan die van het stroomende bloed. Komen alleen mononucleaire leucocyten in het exsudaat of in den etter voor, dan zal de p^H zeer weinig of niet moeten afwijken van die van het stroomende bloed. Komen alleen mononucleaire leucocyten in het exsudaat of in den etter voor, dan zal de p^H zeer weinig of niet moeten afwijken van die van het bloed of van het bloedserum.

Het is dus te verwachten, dat bij acute etteringsprocessen in den etter een p^H bestaat, veel lager dan die van het serum. Bij oude etteringen vooral daar, waar geen polynucleaire leucocyten meer in voorkomen, zal het verschil in p^H met het bloed veel kleiner moeten zijn, of in het geheel niet bestaan. Ook bij tuberculeuse etter, waarin alleen mononucleaire leucocyten voorkomen, is niet te verwachten, dat een groot verschil in p^H met het bloedserum zal gevonden worden.

De p^H van menschelijk bloedserum werd weer bepaald met de indicatorenmethode. Hierbij werd gestuit op groote moeilijkheden door de gele kleur, die meestal aan het serum toekomt en de groote vetrijkdom, die soms aanwezig was. In overeenstemming met de waarden door EVANS¹⁾ met indicatoren vastgesteld, werd ook een p^H van ± 7.6 gevonden.

Onderzocht werd de etter uit een acuut pleuraempyeem. Het van den etter afgecentrifugeerde vocht had een p^H van 6.9. De stinkende etter bevatte veel streptococcen en naast mononucleaire, veel polynucleaire leucocyten en resten daarvan.

Etter uit een acuut zich verheffend kaakabsces had een p^H van 7; naast mononucleaire leucocyten kwamen ook hier veel polynucleaire leucocyten en resten daarvan in den etter voor.

Bij een streptococcenmeningitis had het cerebrospinaalvocht een p^H van 7.3 en bevatte vrij veel leucocyten, waarvan 60% mononucleaire en 40% polynucleaire leucocyten. Den volgenden dag was het punctievocht veel troebeler; de p^H was toen 7.2. De verhouding der soorten was nu veranderd ten gunste der polynucleaire cellen nl. mononucleaire cellen 5% en polynucleaire 95%.

Het onderzoek stemt dus overeen met de verwachting.

De tot nu toe beschreven feiten geven zeker het recht, aan de constante afwijking in de concentratie der H-ionen en aan het in verband daarbij aanwezig abnormale potentiaalverschil, een groote beteekenis toe te kennen ter verklaring van het waargenomen feit der *emigratie*.

Boven hebben we reeds de meening van SCHWYZER²⁾ aange-

¹⁾ l. c.

²⁾ l. c.

haald, die eveneens door potentiaalverschil de ontstekings-emigratie verklaart. Terwijl SCHWYZER evenwel zich de ontstoken weefsels negatief geladen denkt t.o. van het bloed, moeten we ons juist voorstellen, dat in werkelijkheid het omgekeerde het geval is; een negatieve weefsellading zou ook niet de bewegingsrichting van bloedlichaampjes kunnen verklaren, welke zooals we zoo aanstonds zullen zien, positief is. Tot het beginsel van het aannemen van een potentiaalverschil doet dat evenwel niets ter zake. Het lag niet in de lijn van mijn onderzoek voorloopig dieper op het vraagstuk der potentiaalverschillen in te gaan, nadat ik het bestaan ervan had vastgesteld.

In het nu volgende zullen de kataphoreseverschijnselen nog aan een nader onderzoek worden onderworpen.

Kataphoreseproeven met bloedlichaampjes in verband met potentiaalverschillen.

In verband met beweging van deeltjes in een potentiaalverschil, zijn reeds eerder de kataphoreseproeven van HÖBER¹⁾ met roode bloedlichaampjes genoemd. Nu hebben we vroeger gezien en is het ook algemeen bekend, dat de verschillende bestanddeelen van het bloed niet in gelijke mate deelnemen aan de exsudaatvorming; in tegenstelling met opgeloste bestanddeelen en witte bloedlichaampjes met polymorphe kern, is het uitstroomen van roode bloedlichaampjes en mononucleaire leucocyten bijna geheel afwezig. Ligt hieraan een verschillende ladingsrichting van deze cellen ten grondslag? Met deze aan te nemen, komen we met onze verklaring niet

¹⁾ HÖBER. Arch. f. d. ges. Physiol. 101, 627 (1904), 102, 196, (1904).

verder, integendeel; immers HÖBER geeft een negatieve lading op voor witte, maar vooral voor roode bloedlichaampjes; en in verband met hetgeen we boven omtrent zuurgraad en potentiaalverval vonden, zouden we dus verwachten, dat bij ontsteking in elk geval de roode bloedlichaampjes kataphoretisch de bloedbaan zouden verlaten, en een andere lading van de polynucleaire leucocyten zou voor deze de emigratie juist onmogelijk moeten maken. Het was daarom gewenscht, omtrent het al of niet bestaan van ladingsverschil tusschen de verschillende bloedcellen, zekerheid te krijgen en tot dit doel heb ik kataphoreseproeven gedaan, achtereenvolgens met roode bloedlichaampjes en met polynucleaire en mononucleaire exsudaatleucocyten van het konijn. Over het algemeen heb ik voor mijn proeven de wijze van proefinrichting van HÖBER gevolgd.

HÖBER vond, dat weliswaar in de meeste oplossingen de bewegingsrichting gelijk was, maar dat door toevoeging van driewaardige kationen o. a. lantaan- en aluminiumzouten, alsmede door toevoeging van verdunde zuren aan de vloeistof, deze bewegingsrichting kon worden omgekeerd. Hieruit kon de gevolgtrekking worden gemaakt, dat de bloedlichaampjes een negatieve lading bezitten, maar door toevoeging van de genoemde stoffen kunnen worden omgeladen. De sterkte van de lading kan worden uitgedrukt in de hoeveelheid van de stoffen, die noodig is om juist het punt van omkeering teweeg te brengen. KOZAWA¹⁾ bij HÖBER vond, dat voor verschillende dieren de sterkte van lading verschillend was.

Het leek mij gewenscht te onderzoeken, hoe de verschillende elementen van het konijnebloed zich ten opzichte van deze kataphorese gedroegen, of bijv. roode bloedlichaampjes,

¹⁾ KOZAWA, *Biochem. Zuitschr.* 60, p. 146.

polynucleaire en mononucleaire leucocyten in den zelfden zin geladen waren en zoo ja, of de sterkte van de lading, gemeten door bepaling van het omkeeringspunt, voor alle drie soorten dezelfde was.

Eerst werden de kataphoreseproeven herhaald met roode bloedlichaampjes van het konijn. Het bloed werd direct in een isotonische glucoseoplossing opgevangen en wel één druppel bloed op 10 cc. glucose 4.15 %.

Voor het onderzoek werd gebruik gemaakt van een iets vereenvoudigd toestel van HÖBER. De roode bloedlichaampjes gingen steeds naar de anode. Voor het omkeeren van de lading, werd aan de vloeistof zuur toegevoegd door middel van doorleiding van koolzuur of door toevoeging van 1/100 n. HCl. De sterkte van den zuurgraad werd weer bepaald door de indicatorenmethode. Het spreekt nl. vanzelf, dat de hoeveelheid toegevoegd zuur op zichzelf geen maat voor de sterkte van lading kan zijn; immers deze wordt alleen bepaald door de H-ionenconcentratie, waarbij de omlading tot stand komt. De invloed nu van een bepaalde hoeveelheid toegevoegd zuur op de H-ionenconcentratie kan zeer verschillend zijn bij verschillende vloeistoffen o.a. afhankelijk van de mate, waarin deze vloeistof tegen zuur gebufferd is. De eenvoudigste wijze, om met voldoende graad van nauwkeurigheid de concentratie der H-ionen te bepalen, is wel door middel van de indicatorenmethode. Van de door CLARK en LUBS¹⁾ aanbevolen kleurstoffen werd door mij voor het bepalen van de H-ionenconcentratie, die aanwezig was op het punt van omlading, *methylrood* gebruikt. Deze kleurstof bleek voor deze H-ionenconcentratie het best geschikt te zijn, zooals mij door voorloopige

¹⁾ l. c.

proefnemingen bleek. Uit de onderzoeken van RADSMAS¹⁾ en anderen was gebleken, dat het ontladingspunt of *isoelectrische punt* vrijwel samenviel met het optimum van agglutinatatie van bloedlichaampjes. Van deze eigenschap werd gebruik gemaakt, om ten naastenbij het isoelectrische punt en dus het te verwachten omkeeringspunt van de lading te bepalen. Door toevoeging van verschillende hoeveelheden 1/100 .n.HCl aan een serie buisjes met suspensies van bloedlichaampjes in glucose 4.15⁰, werd het optimum van agglutinatatie bepaald en tevens door indicatoren de H-ionenconcentratie gecontroleerd. Met verschillende suspensies rondom het optimum van agglutinatatie werden kataphoreseproeven gedaan.

Het bleek, dat bij het optimum van agglutinatatie de bloedlichaampjes in den galvanischen stroom stil stonden, terwijl zij zich in een suspensie, waarbij minder zuur was toegevoegd, naar de anode begaven en in een suspensie, waarbij meer zuur was toegevoegd, naar de kathode. Door toevoeging aan deze suspensie van methylrood bleek nu, dat bij een p^H van 4.8 de roode bloedlichaampjes bijna stil stonden, maar toch nog zeer zwak naar de anode gingen. Bij een p^H van 4.6 bewogen ze zich zwak naar de kathode. De roode bloedlichaampjes bewegen zich dus in een isotonische glucoseoplossing steeds naar de anode, totdat een p^H is bereikt, overeenkomende met het isoelectrische punt van serumalbumine. Wordt de reactie nog zuurder, dan gaan de roode bloedlichaampjes naar de kathode.

Daarna werden proeven genomen met polynucleaire en mononucleaire leucocyten. Deze werden verkregen door inspuiten in de buikholte van verschillende vloeistoffen, zooals in hoofdstuk I is beschreven. De polynucleaire en de mononucleaire leucocyten

¹⁾ W. RADSMAS. Dissertatie Groningen 1919.

werden eveneens opgevangen in glucoseoplossing 4.15 % nl. één druppel van het exsudaat in 10 cc. van de glucoseoplossing. Het bleek mij nu, dat ten opzichte van hun bewegingsrichting, deze cellen zich geheel gedroegen als roode bloedlichaampjes; ook hier een beweging naar de anode, die bij een p^H van 4.8 tot 4.6 omkeerde, ook hier op dit isoelectrische punt een maximum van agglutinatie. Het blijkt dus, dat deze bloedelementen zich in een glucoseoplossing van 4.15 % alle gelijk gedragen; zij gaan steeds naar de anode.

Daarna werd hun gedrag onderzocht in andere vloeistoffen, als NaCl 0.9 en serum, immers de mogelijkheid bestaat, dat de lading der bloedlichaampjes en dus de bewegingsrichting niet in alle omgevende vloeistoffen dezelfde is. Deze lading moet voor een groot gedeelte bepaald worden door de stoffen, die aan het oppervlak der bloedlichaampjes een condensatiemembraan vormen. Uit de onderzoekingen van BRINKMAN en VAN DAM¹⁾ is nu gebleken, dat een belangrijk deel dezer stoffen o.a. door behandeling met NaCl 0.9 kan worden afgespoeld, terwijl in serum de normale toestand gehandhaafd blijft. Het bleek, dat in deze vloeistoffen, ofschoon de beweging uiterst langzaam was, alle bloedlichaampjes zich steeds naar de anode begaven. Daaruit mogen we dus opmaken, dat bij mijn proefinrichting, waar de bloedlichaampjes niet gewassen werden, gedurende den duur van de proef, van het oppervlak der bloedlichaampjes geen noemenswaarde afspoeling, tenminste voor zoover het betreft stoffen, die de lading beïnvloeden, heeft plaats gevonden. Mijn onderzoekingen zijn dus in tegenspraak met die van KOSAVA en SEKI die de roode bloedlichaampjes van het konijn in tegenstelling met die van alle andere dieren

¹⁾ l. c.

naar de negatieve pool laten gaan. Ofschoon ik het oorspronkelijke stuk niet gelezen heb, meen ik uit het uitvoerige referaat in de „Berichte über die gesammte Physiologie und experimentelle Pharmakologie“ te moeten opmaken, dat deze onderzoekers de bloedlichaampjes hebben gewasschen. Het spreekt vanzelf, dat aan een dergelijke manier van onderzoek geen waarde is toe te kennen.

Op grond van mijn onderzoekingen mogen we dus aannemen, dat de bloedlichaampjes in het lichaam door den electrischen stroom zich slechts naar de anode kunnen verplaatsen, immers in het bloed en de weefselvochten komt nooit een zuurgraad voor, dat het isoelectrische punt van de bloedlichaampjes wordt bereikt. Deze lading is in overeenstemming met de bewegingsrichting bij de emigratie in verband met het gevonden potentiaalverschil.

Een verschil in de sterkte of in het teeken der lading tusschen roode bloedlichaampjes en lymphocyten eenerzijds en polynucleaire cellen aan den anderen kant, kon niet worden gevonden. We kunnen dus het verschillend gedrag van deze cellen in het potentiaalverval in het lichaam bij ontsteking, niet door verschillende lading verklaren. We moeten deze dus zoeken in andere eigenschappen der cellen. We hebben in het lichaam ook niet te doen met zuivere kataphorese van pool tot pool door een vloeistof heen: immers in de vloeistof in het lichaam is als complicatie in de eerste plaats de capillairwand als tusschen-schot geplaatst, verder zullen in wisselende mate andere weefselbestanddeelen (bindweefselcellen, fibrillen enz.) door hunne oppervlaktewerking het probleem ingewikkeld maken. We kunnen zeggen, dat het beginsel der kataphoretische beweging voor alle drie soorten cellen gelijkelijk aanwezig is, dit wordt gedemonstreerd door het vasthouden van alle

elementen van het bloed in het capillaargebied van het potentiaalverschil en in het verdwijnen van de lymphocyten uit de bloedbaan. Of dit principe evenwel tot het einde kan worden doorgevoerd, dus eindigt met het optreden der cellen in de exsudaatvloeistof, hangt af van nog andere eigenschappen dan de lading. Hier moeten oppervlaktewerkingen en eenvoudige viscositeitseigenschappen een groote rol spelen; de grootere vastheid der roode bloedlichaampjes kan maken, dat in het algemeen aan deze het doortreden door den vaatwand is ontzegd. We kunnen ons voorstellen, dat voor de lymphocyten de kataphoretische beweging secundair wordt geremd door oppervlakte aantrekking tot bindweefselementen. Alleen de polynucleaire cellen moeten de noodzakelijke plasticiteit in hun protoplasma bezitten, die zich uit in hun amoëboïde eigenschappen; hier wordt onder den invloed van het potentiaalverschil de amoëboïde beweging gericht, niet of niet afdoend geremd door weefselattractie. Een overeenkomstig verschil tusschen mononucleaire en polynucleaire cellen, waarbij naar allen schijn eveneens oppervlaktewerkingen t. o. v. het glas in het spel zijn, vinden we in de ongelijkmatige verspreiding van lymphocyten en polynucleaire cellen in een strijkpraeparaat van bloed, waarop reeds bij de techniek der bloedtelling is gewezen.

Samenvatting.

Wanneer we het in dit hoofdstuk behandelde samenvatten, komen we tot de volgende feiten:

We kunnen het optreden der emigratie niet verklaren door een specifieke chemotaxis van bepaalde scheikundige stoffen. Immers mijn proeven bewezen, dat de emigratie plaats vond onder den invloed van chemische stoffen van de meest

verschillende eigenschappen. Het valt moeilijk in de exsudaat-vloeistoffen, welke zich vormen na inspuiting van verschillende heterogene vloeistoffen, een bepaalde constante verandering in chemischen zin aan te wijzen, welke met de emigratie zou kunnen worden in verband gebracht. Immers de oorspronkelijke, van de normale samenstelling sterk afwijkende vloeistof, keert in zeer korten tijd door diffusie van verschillende stoffen tot normale verhoudingen terug, zoodat bijv. na enkele uren Ca, Cl en glucosegehalte en ook het eiwitgehalte reeds weder vrijwel normaal zijn; alleen het Ca gehalte blijft iets achter.

Er is evenwel één afwijking in physisch-chemischen zin, welke constant wordt terruggevonden, nl. een verhoogde concentratie der H-ionen, welke altijd optreedt, ook als de ingespoten vloeistof eerst alkalisch was. Deze verhooging van den zuurgraad, hoewel waarschijnlijk veroorzaakt door stofwisselingsprocessen, schijnt niet zoo zeer te berusten op directe productie en daardoor ophooping van koolzuur. De koolzuurspanning in het vocht is niet abnormaal hoog. Veeleer moet aan een vorming van andere zuren gedacht worden, waardoor de hoeveelheid alkalireserve van de vloeistof moet worden verlaagd.

Deze verhoogde zuurgraad moet voor de emigratie aansprakelijk worden gesteld; immers als kunstmatig de zuurgraad van het ingespoten vocht normaal gehouden wordt, blijft de emigratie uit. In overeenstemming hiermede is, ook in ontstekingsabscessen van infectieusen oorsprong, de reactie van het vocht in den ontstekingshaard duidelijk zuurder dan die van het bloed. Met het verschil in zuurgraad tusschen bloed en ingespoten vloeistof gaat een potentiaalverschil gepaard, zooals door proeven in vitro en in vivo kon worden geconstateerd.

Het is aannemelijk, dat het potentiaalverschil de bewegingsrichting bij de emigratie teweeg brengt in den zin van een

kataphoretische verplaatsing. Het ladingsteeken der witte bloedlichaampjes is hiermee in overeenstemming. Dat de roode bloedlichaampjes en lymphocyten, ondanks volkomen gelijke lading, niet in het exsudaat verschijnen, kan gereedelijk door andere viscositeits- en oppervlakteverhoudingen dezer cellen worden verklaard.

ALGEMEENE SAMENVATTING.

De boven beschreven onderzoekingen houden zich in hoofdzaak bezig met 1. het verloop van de exsudaatvorming, 2. de herkomst der exsudaatleucocyten, 3. de oorzaken der emigratie.

Ad 1. Wat betreft HET VERLOOP VAN DE EXSUDAAT-VORMING kan ik het volgende opmerken :

Aan de hand van de methode van de Haan, voor het verwekken van steriele leucocytenexsudaten in de buikholte van verschillende dieren, werd een onderzoek ingesteld naar het verloop en de oorzaken van de emigratie der witte bloedlichaampjes.

Bij normale niet geïnjiceerde konijnen werden, in overeenstemming met vorige onderzoekers, alleen mononucleaire cellen in de buikholte aangetroffen.

Iets geheel anders ziet men, wanneer vloeistoffen in de buikholte worden ingespoten. Onverschillig wat werd ingespoten: stijfseloplossing in NaCl 0.9%, NaCl 0.9% alleen, isotonische oplossing van Na_2SO_4 , Na_2HPO_4 en NaHCO_3 , isotonische oplossingen van niet-electrolyten als rietsuiker en glucose, physiologische vloeistoffen als Ringer's vloeistof, ultrafiltraat van serum, steriel soorteigen serum, en ten slotte oleum olivarum en paraffinum liquidum, steeds vertoonde zich het volgende verloop.

In het eerst gedurende 24 uur waren nog uitsluitend mononucleaire cellen aanwezig, terwijl zich daarna een sterke emigratie van polynucleaire leucocyten ontwikkelde, zoodat na eenige uren het exsudaat bijna uitsluitend polynucleaire leucocyten bevatte. Pas later, na ongeveer één dag nemen ook de mononucleaire cellen in aantal toe.

Hieruit volgt:

- a. *dat er geen specifieke chemotaxis van deze stoffen voor polynucleaire leucocyten bestaat en dat dus de emigratie aan een andere oorzaak moet worden toegeschreven,*
- b. *dat de mononucleaire cellen in de eerste uren in het exsudaat niet in aantal toenemen, verder dat zij na langeren tijd wel vermeederen; dat dus hun aanwezigheid in het exsudaat moeilijk op directe emigratie uit het bloed kan berusten,*
- c. *dat aan olie evenmin een chemotactische werking op mononucleaire leucocyten toegekend moet worden, daar de mononucleaire cellen in de eerste dagen niet in grooter hoeveelheid in een olieexsudaat voorkomen dan in eenig ander exsudaat en dat de later optredende groote hoeveelheid mononucleaire cellen moet toegeschreven worden aan de neiging der macrophagen, de resten van exsudaten te organiseren.*

Tevens gaven deze proeven een middel aan de hand, om groote hoeveelheden mononucleaire leucocyten te verkrijgen, wat tot dusverre nog niet gelukt was, en wel door het inspuiten van oleum olivarium en paraffinum liquidum.

Ad 2. *Omtrent de HERKOMST DER LEUCOCYTEN kon het volgende worden vastgesteld:*

Het normale konijnbloed bevat overwegend mononucleaire leucocyten (70 à 80 $\frac{0}{10}$, mononucleaire en 20 à 30 $\frac{0}{10}$, polynucleaire leucocyten).

Bij het bloedonderzoek dient, om dikwijls gemaakte fouten te vermijden, te worden gelet o. a. op de snelheid van uitstroomen van den te onderzoeken bloeddruuppel, op irritatie der ooren, op den leeftijd van het proefdier en op den aard van het voedsel. Gewezen wordt op de groote verandering die optreedt in het bloedbeeld na overvloedige havervoeding.

Het bloedbeeld ondergaat een sterke verandering door het inspuiten van waterige vloeistoffen in de buikholte, die altijd hierin bestaat,

- a. dat eerst een sterke daling optreedt van het aantal witte bloedcellen, waaraan poly- en mononucleaire leucocyten bijna even sterk deelnemen.
- b. dat deze daling na eenige uren haar laagste punt bereikt,
- k. dat daarna een langzame stijging van het aantal witte bloedlichaampjes optreedt, die meestal den volgenden dag nog uitgedrukt is door een matige hyperleucocytose van beide soorten, voornamelijk der polynucleaire leucocyten.

Brengt men in plaats van waterige vloeistoffen, *oleum olivarium* of *paraffinum liquidum* in de buikholte, dan is meestal geen duidelijke hypoleucocytose van polynucleaire leucocyten te constateeren, vooral niet bij de laatste vloeistof. Er ontstaat evenwel een duidelijke lang aanhoudende hypoleucocytose van mononucleaire leucocyten (meestal eenige weken), terwijl tevens of direct, of na één of meer dagen, een hyperleucocytose van polynucleaire leucocyten optreedt, die eveneens eenige weken aanhoudt. Bij deze verschillen met waterige vloeistoffen moet in het oog worden gehouden, dat een exsudaat na inspuiting van waterige vloeistoffen, na verloop van één of meer dagen reeds weer is geresorbeerd, terwijl olie en paraffine soms meer dan een maand in de buikholte aanwezig blijven.

Naar aanleiding van het wel verdwijnen uit het bloed en het niet verschijnen in het exsudaat van de mononucleaire leucocyten, kan men zich niet onttrekken aan de gedachte, dat er overgang plaats heeft van mononucleaire in polynucleaire leucocyten. Deze overgang kon worden vastgesteld door het histologisch onderzoek van de weefsels rondom het exsudaat en door het kweken in vitro van myelocyten uit lymphklierweefsel. Dit is trouwens geheel in overeenstemming met de resultaten door DOMINICI en MAXIMOW verkregen.

Ad 3. Aangaande de OORZAKEN DER EMIGRATIE leerde het onderzoek het volgende:

Chemotaxis moest worden verworpen op grond van het feit, dat

zeer verschillende chemische stoffen emigratie van leucocyten veroorzaken. Er kon immers worden aangetoond, dat de samenstelling der ingespoten vloeistoffen, ook wanneer deze eerst zeer sterk afweek van die van het normale buiktranssudaat, reeds na enkele uren daarmee in vrijwel alle opzichten overeenkwam; Cl, Ca, glucose en eiwitgehalte waren dan reeds weer vrijwel normaal.

Ziet men na insputtingen zeer spoedig het ingespoten vocht, het gehalte aan Cl, Ca enz. van het normale buiktranssudaat aannemen, geheel anders is dit met de **H-ionenconcentratie**. Reeds na $\frac{1}{2}$ à 1 uur treedt er een **constante afwijking in de concentratie der H-ionen** op in dien zin, dat de vloeistof zuurder wordt; de p^H daalt van de normale waarde 7.6 tot 7.2 Deze afwijking blijft meerdere uren in den zelfden graad bestaan.

Aan de **H-ionenconcentratie** moet een beslissende betekenis worden toegeschreven voor het tot stand komen van de emigratie; immers deze emigratie kon worden verhinderd, wanneer het zuur worden van de ingespoten vloeistof door alkalitoevoeging werd belet. Het kan dus nauwelijks betwijfeld worden, dat het al of niet optreden van emigratie door een **potentiaalverschil** beheerscht wordt.

Daarmee in overeenstemming zijn nog de volgende feiten:

- a. Ook bij **pathologische processen** bleek het exsudaatvocht duidelijk zuur te zijn ten opzichte van het bloed.
- b. Er bleken in vitro duidelijke potentiaalverschillen te bestaan tusschen twee vloeistoffen met een verschillend H-ionengehalte, wanneer daartusschen een zoogenaamde öl als tusschenphase was geschakeld.
- c. Voorloopige proeven wezen uit, dat ook in het lichaam een potentiaalverschil tusschen het bloed en het exsudaat in den verwachten zin aanwezig was. Dit potentiaalverschil zal den stoot tot de emigratiebeweging geven, evenals dit bij de **kataphorese** geschiedt.

Kataphoreseproeven toonden aan, dat de uitzonderingspositie, die bij de emigratie aan de polynucleaire leucocyten toekomt, niet

gezocht moet worden in een afwijkende lading van deze cellen tegenover de roode bloedlichaampjes en de lymphocyten. Het verschil in gedrag van deze celsoorten tegenover potentiaalverschillen, zal gezocht moeten worden in onderling verschillende oppervlakte-verhoudingen, waarop ook de amoeboïde bewegelijkheid berust.

S T E L L I N G E N.

I.

Bij tuberculose wordt de prognose niet ongunstig beïnvloed door de aanwezigheid van erfelijke belasting.

II.

Het is zeer aan twijfel onderhevig, of de secundaire geslachtskenmerken moeten worden toegeschreven aan het interstitieele weefsel der geslachtsklieren.

III.

Het opereeren van maligne tumoren moet gevolgd worden door een radiologische nabehandeling.

IV.

Bij dementia paralytica passe men naast andere methoden de infectietherapie van WAGNER-JAUREGG toe.

V.

Er is geen reden aan te nemen, dat het normale oogkamer-vocht een strooming in een bepaalde richting vertoont.

VI.

De reacties op progressiebewegingen worden opgewekt door prikkeling van de halfcirkelvormige kanalen.
